

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EFECTO DEL GRADO DE OXIDACION DE ACEITE DE PESCADO
Y DE LA SUPLEMENTACION CON VITAMINA "E"
Y UN ANTIOXIDANTE SINTETICO EN
LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO
Penaeus vannamei

TESIS

QUE PRESENTA

BIOL. PABLO SAN MARTIN DEL ANGEI

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN RECURSOS ALIMENTICIOS Y PRODUCCION ACUICOLA

AGOSTO DE 1993

TM
Z5320
FCB
1995
S2



1020113959

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**EFECTO DEL GRADO DE OXIDACION DE ACEITE DE PESCADO
Y DE LA SUPLEMENTACION CON VITAMINA "E"
Y UN ANTIOXIDANTE SINTETICO EN
LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO**

Penaeus vannamei

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

TESIS

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

QUE PRESENTA

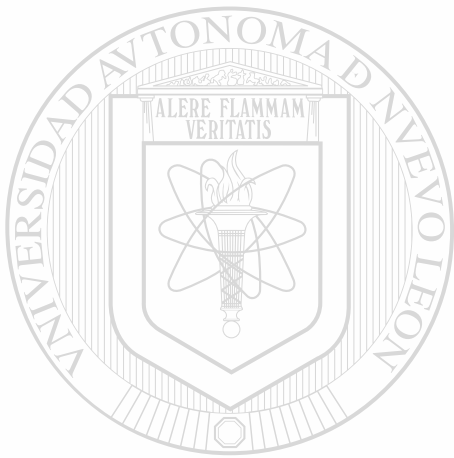
BIOL. PABLO SAN MARTIN DEL ANGEL

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN RECURSOS ALIMENTICOS Y PRODUCCION ACUICOLA**

AGOSTO DE 1995.

TM
25320
FCB
1995
S2

0116-23260



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

EFFECTO DEL GRADO DE OXIDACION DE ACEITE DE PESCADO
Y DE LA SUPLEMENTACION CON VITAMINA "E"
Y UN ANTIOXIDANTE SINTETICO EN
LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO
Penaeus vannamei

TESIS

QUE PRESENTA

BIOL. PABLO SAN MARTIN DEL ANGEL

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD
EN RECURSOS ALIMENTICOS Y PRODUCCION ACUICOLA

COMISION DE TESIS

PRESIDENTE:


DR. DENIS RICQUE MARIE

SECRETARIO:


DRA. L. ELIZABETH CRUZ SUAREZ

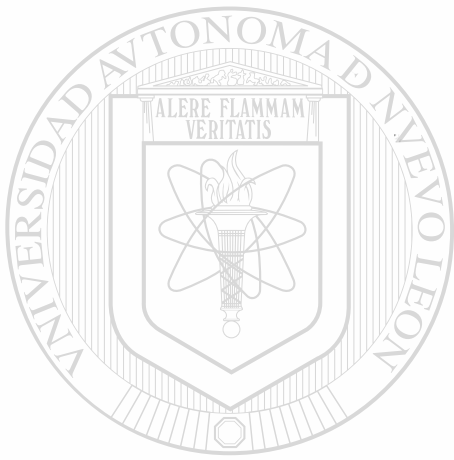
VOCAL:


M.S.P. GRACIELA GARCIA DIAZ



FONDO TESIS

MONTERREY, N.L., JULIO DE 1995.

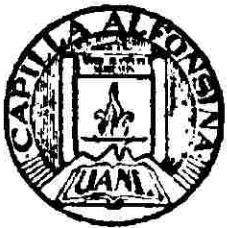


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FONDO TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

EFFECTO DEL GRADO DE OXIDACION DE ACEITE DE PESCADO
Y DE LA SUPLEMENTACION CON VITAMINA "E"
Y UN ANTIOXIDANTE SINTETICO EN
LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO
Penaeus vannamei

TESIS

QUE PRESENTA

BIOL. PABLO SAN MARTIN DEL ANGEL

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN RECURSOS ALIMENTICOS Y PRODUCCION ACUICOLA

DIRECTOR:



DR. DENIS RICQUE MARIE.

CO-DIRECTOR:



DRA. L. ELIZABETH CRUZ SUAREZ.

ASESOR INTERNO:



M.S.P. GRACIELA GARCIA DIAZ.

ASESOR EXTERNO:



DRA. CRISTINA CHAVEZ SANCHEZ.

MONTERREY, N.L. JULIO DE 1994.

AGRADECIMIENTOS

A ZAPATA PROTEINS EN PARTICULAR A MR. ANTHONY P. BIMBO, DIRECTOR OF APPLIED DEVELOPMENT, ZAPATA PROTEINS INC., MENHADEN OIL REFINERY, REEDVILLE VIRGINIA U.S.A, POR OTORGARME EL ACEITE DE PESCADO DE MENHADEN, SU INTERES Y BRINDARME LA INFORMACION DEL ACEITE DE PESCADO.

A MRS. GLORIA SEABORN: OF THE U.S. DEPT. OF COMMERCE, NATIONAL MARINE FISHERIES SERVICE LAB., CHARLESTON, SOUTH CAROLINA, U.S.A; POR REALIZAR LOS ANALISIS DE LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DE LOS ACEITES CON DIFERENTE GRADO DE OXIDACION.

AGRADEZCO A ROCHE ECUADOR Y ROCHE MEXICO POR PATROCINAR LOS ANALISIS DE VITAMINA E, EN LOS CAMARONES, EN PARTICULAR A McS. JOSE IGNACIO ARANGO G. Y AL DR. HANS MANN POR SU APOYO E INTERES PARA LA REALIZACION DE ESTA INVESTIGACION.

AGRADEZCO TAMBIEN A F. HOFFMANN LA ROCHE LTD., BASEL SUIZA POR REALIZAR LOS ANALISIS DE VITAMINA E, EN LOS CAMARONES. EN PARTICULAR A LOS DRS. D.W. SCHUEP, DR. H. J. BROZ, DR. BASILE CANFANTARIS.

A LA CIA. DRESEN QUIMICA POR SU APOYO EN EL EQUIPO A.O.M., BIBLIOGRAFIA Y ESTANCIA EN SU LABORATORIO Y MUESTRAS DE ANTIOXIDANTE SINTETICO ETQ, EN PARTICULAR AL ING. RICARDO SOTO C., POR APOYO, INTERES Y SUGERENCIAS PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO, A LA ING. ROCIO GARIBAY A., AL ING. MOISES VALLE Y A GUADALUPE ZEA JUAREZ, POR SU AYUDA EN DRESEN.

A LA CIA. NOVUS INTERNATIONAL, INC., ST. LOUIS MISSOURI, U.S.A.; POR PATROCINAR LOS ANALISIS DE V.P., VIT. E Y ETQ EN EL ACEITE DE PESCADO, COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS, VIT. E Y ETQ RESIDUAL EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES, EN PARTICULAR AL DR. WILLIAM SHERMER, AL M.C. BENJAMIN RUIZ, DRA. JULIA DIBNER, POR SU CONTRIBUCION A ESTA INVESTIGACION.

A LA CIA. RALSTON-PURINA, ST. LOUIS MISSOURI, U.S.A. POR PATROCINAR LOS ANALISIS DE P.V., T.B.A. Y ACIDOS GRASOS LIBRES EN EL ACEITE DE PESCADO. EN PARTICULAR A: M.C. JESUS ZENDEJAS, MR. GEORGE CHAMBERLAIN, POR SU CONTRIBUCION A LA REALIZACION DE ESTA INVESTIGACION.

A LA CIA. TECNICAS NUTRICIONALES, MONTERREY, NUEVO LEON; MEXICO POR OTORGARME LA MEZCLA VITAMINICA Y LA VITAMINA E UTILIZADA EN LOS ALIMENTOS, EN ESPECIAL A: ING. McS. ROBERTO TELLEZ, Q.F.B. BERTHA ALICIA GARZA Y LA Q.F.B. MARIA DEL ROBLE, POR SU AYUDA QUE ME BRINDARON EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AL DR. IAN H. PIKE: DIRECTOR OF NUTRITION, INTERNATIONAL FISHMEAL & OIL MANUFACTURERS ASSOCIATION (I.F.O.M.A.), LONDRES; INGLATERRA, POR SU INTERES Y SUGERENCIAS PARA ESTE TRABAJO.

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA (C.O.N.A.C.y T.) POR OTORGARME LA BECA DURANTE EL PERIODO MARZO 1993 A AGOSTO 1995.

AL CONACyT, POR SU APOYO ECONOMICO EN EL PROYECTO CLAVE 47100-5-1572-A9208.

A LA COMUNIDAD EUROPEA POR SU APOYO ECONOMICO EN EL PROYECTO C11*-CT93-0300. "DETERMINATION OF SOME FACTORS AFFECTING THE NUTRITIONAL AND BIOTOXICOLOGICAL VALUE OF FISH MEAL FOR USE IN FEED FOR SHRIMP CULTURE AND ESTABLISHMENT OF QUALITY CONTROL NORMS".

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DEL LAB. DE MARICULTURA: M.C. ISABEL ABDO DE LA PARRA, M.C. LAURA MONICA TREVIÑO Y ESPOSO MVZ. ALBERTO CELIS, A LA BIOL. MARTHA G. NIETO, ING. ALMA LAURA MELO, BIOL. CARLOS AGUILERA G., AL BIOL. JESUS MONTEMAYOR L., A LA BIOL. PATY DOMINGUEZ, M.C. GABRIEL AGUIRRE GUZMAN, A LA Q.B.P. TOÑITA GLEZ., A LA Q.B.P. TONY LARA R. Y AL M.V.Z. M.C. PABLO ZAPATA B. (POR GUARDARME LAS MUESTRAS DE CAMARONES), AL ING. ALBERTO BUMAS (POR GUARDARME LOS ALIMENTOS).

DE MANERA ESPECIAL AL DR. DENIS RICQUE M., POR SU INIGUALABLE ASESORIA, PACIENCIA, INTERES Y MUCHA DEDICACION PARA LA DIRECCION DE ESTE TRABAJO.

A LA DRA. L. ELIZABETH CRUZ S., POR TRANSMITIRME SU ENTUSIASMO, ASESORIA, DEDICACION, INTERES Y CONFIANZA.

A LA M.S.P. GRACIELA GARCIA DIAZ, POR SU GRAN AMISTAD, CONFIANZA, CARIÑO Y APOYO.

A MIS MAESTROS: DR. ROBERTO MENDOZA, DRA. GUADALUPE ALANIS, DR. RAHIM FOROUGHBAHKCH (POR SU ASESORIA EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL), DR. PEDRO WESCHE EBELIN, M.C. ROBERTO MERCADO, ETC.

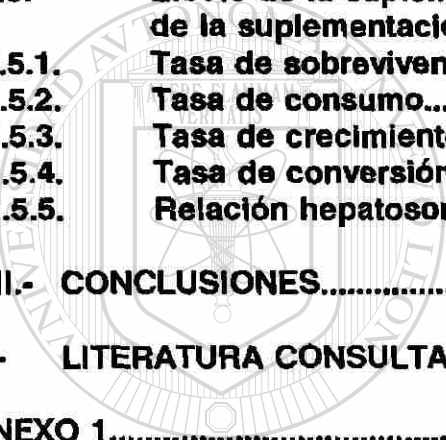
A TODAS Y CADA UNA DE LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA CONTRIBUYERON CON SU GRANITO DE ARENA, MI MAS INFINITO AGRADECIMIENTO.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
INDICE, DE TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS.....	i
RESUMEN.....	ii
I.- INTRODUCCION.....	1
II.- ANTECEDENTES.....	3
II.1. Producción.....	3
II.2. Proceso de reducción de la materia húmeda.....	3
II.2.1. El flujo de sólidos.....	4
II.2.1.1. Cocción.....	4
II.2.1.2. El prensado.....	4
II.2.1.3. El secado.....	4
II.2.2. El flujo de líquidos.....	4
II.2.2.1. El tratamiento de los líquidos de prensado.....	4
II.2.2.2. Decantación.....	4
II.2.2.3. Separación.....	5
II.2.4. Purificación.....	5
II.3. Utilización de aceites de pescado en la nutrición animal.....	5
II.3.1. Vitaminas liposolubles.....	5
II.3.2. Aceites de pescado en dietas prácticas.....	7
II.4. Requerimientos de ácidos grasos esenciales.....	7
II.5. Mecanismo de enranciamiento de lípidos.....	8
II.6. Mecanismo de acción de los antioxidantes.....	9
II.7. Efecto de la rancidez en alimentos para peces.....	11
II.8. Efecto de la rancidez en alimentos para camarón.....	13
III.- OBJETIVOS.....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos particulares.....	15
IV.- HIPOTESIS.....	15
V.- MATERIAL Y METODOS.....	16
V.i. Aceite de pescado experimental.....	16
V.1.1. Oxidación acelerada y controlada del aceite experimental.....	17
V.1.2. Evaluación química del grado de oxidación del aceite.....	17
V.2. Ingredientes experimentales.....	17
V.2.1. Análisis químico de los ingredientes experimentales.....	18
V.3. Dietas experimentales.....	18

V.3.1.	Ensayo preeliminar: Determinación de pérdida de antioxidante por extrusión húmeda en un alimento para camarón.....	19
V.3.2.	Formulación de las dietas experimentales.....	20
V.3.3.	Preparación de las dietas experimentales.....	20
V.3.4.	Análisis de las dietas experimentales.....	21
V.4.	Descripción de la sala de bioensayos.....	22
V.5.	Características de los organismos experimentales.....	22
V.6.	Diseño experimental.....	22
V.6.1.	Justificación del diseño experimental.....	23
V.7.	Condiciones experimentales.....	23
V.8.	Parámetros de la evaluación biológica.....	24
V.9.	Análisis estadístico.....	25
V.10.	Relación hepatosomática.....	25
V.11.	Determinación del contenido de vitamina E en los camarones.....	25
V.12.	Evaluación histológica.....	26
VI.-	RESULTADOS.....	27
VI.1.	Oxidación del aceite de pescado.....	27
VI.1.1.	Cambios del grado de oxidación del aceite de pescado.....	27
VI.1.2.	Cambios en la composición de ácidos grasos del aceite de pescado.....	29
VI.2.	Análisis proximal de los otros ingredientes.....	31
VI.3.	Análisis proximal de las dietas experimentales.....	31
VI.4.	Análisis del grado de oxidación de las dietas.....	32
VI.5.	Evaluación biológica.....	32
VI.5.1.	Efecto del grado de oxidación del aceite de pescado y de la suplementación o no con vitamina E.....	32
VI.5.1.1.	Sobrevivencia.....	33
VI.5.1.2.	Tasa de consumo.....	36
VI.5.1.3.	Tasa de crecimiento.....	39
VI.5.1.4.	Tasa de conversión alimenticia.....	42
VI.5.1.5.	Relación hepatosomática.....	44
VI.5.2.	Efecto de la suplementación o no con vitamina E y de la suplementación o no con antioxidante sintético etoxiquin (ETQ).....	46
VI.5.2.1.	Sobrevivencia.....	46
VI.5.2.2.	Tasa de consumo.....	50
VI.5.2.3.	Tasa de crecimiento.....	52
VI.5.2.4.	Tasa de conversión alimenticia.....	54
VI.5.2.5.	Relación hepatosomática.....	56
VI.6.	Parámetros físico-químicos.....	57

VII.- DISCUSION.....	58
VII.1. Oxidación del aceite de pescado.....	58
VII.1.1. Cambios del grado de oxidación del aceite de pescado.....	58
VII.1.2. Cambios en la composición de ácidos grasos del aceite de pescado.....	59
VII.2. Análisis de las dietas experimentales.....	59
VII.3. Análisis del grado de oxidación de las dietas.....	60
VII.4. Efecto del grado de oxidación del aceite de pescado y de la suplementación o no con vitamina E.....	61
VII.4.1 Tasa de supervivencia.....	61
VII.4.2. Tasa de crecimiento.....	62
VII.4.3. Tasa de conversión alimenticia.....	63
VII.4.4. Tasa de consumo.....	63
VII.4.5. Relación hepatosomática.....	64
VII.5. Efecto de la suplementación o no con vitamina E y de la suplementación o no con antioxidante sintéticoETQ.....	64
VII.5.1. Tasa de supervivencia.....	64
VII.5.2. Tasa de consumo.....	66
VII.5.3. Tasa de crecimiento.....	66
VII.5.4. Tasa de conversión alimenticia.....	66
VII.5.5. Relación hepatosomática.....	66
VIII.- CONCLUSIONES.....	68
X.- LITERATURA CONSULTADA Y REVISADA.....	70
ANEXO 1.....	75
ANEXO 2.....	78
ANEXO 3.....	86
ANEXO 4.....	90
ANEXO 5.....	93



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



LISTA DE TABLAS.

No. TABLA	DESCRIPCION
1	Especificaciones del aceite de pescado (menhaden) experimental.....16
2	Composición típica de ácidos grasos (%) del aceite de pescado (menhaden) experimental.....16
3	Fórmula de las dietas experimentales.....21
4	Determinación del grado de oxidación del aceite de pescado experimental (F.C.B./U.A.N.L.).....27
5	Determinación del grado de oxidación en las muestras del aceite de pescado por el laboratorio (Ralston-Purina).....29
6	Composición de ácidos grasos de los aceites de pescado sometidos a oxidación creciente (mg/g).....30
7	Análisis proximal de ingredientes.....31
8	Análisis proximal de alimentos experimentales.....32
<p>Resultados promedio de las evaluaciones biológicas comparando los grupos de camarones alimentados con las dietas conteniendo aceites con grados de oxidación creciente y suplementadas o no con vitamina E.</p>	
9	Resultados promedio de sobrevivencia (%) durante el bioensayo.....35
10	Resultados promedio de la tasa de consumo durante el bioensayo.....38
11	Resultados promedio de la tasa de crecimiento durante el bioensayo.....41
12	Resultados promedio de la tasa de conversión alimenticia durante el bioensayo.....43
13	Resultados promedio de la relación hepatosomática.....45

Resultados promedio de las evaluaciones biológicas comparando los grupos de camarones alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado, suplementadas o no con vitamina E y/o ETQ.

14	Resultados promedio de la sobrevivencia (%) durante el bioensayo.....	49
15	Resultados promedio de la tasa de consumo durante el bioensayo.....	51
16	Resultados promedio de la tasa de crecimiento durante el bioensayo.....	53
17	Resultados promedio de la tasa de conversión alimenticia durante el bioensayo.....	55
18	Resultado promedio de la relación hepatosomática durante el bioensayo.....	57



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



LISTA DE FIGURAS.

No. FIG.	DESCRIPCION
1	Diagrama del diseño experimental.....23
2	Cinéticas de oxidación del aceite de menhaden.....28

Figuras de las evaluaciones biológicas los grupos de camarones alimentados con las dietas conteniendo aceites con grados de oxidación creciente y suplementadas o no con vitamina E.

3	Número de replicados con mortalidad $< 0 = 40\%$34
4	Tasa de sobrevivencia.....34
5	Consumo de alimento a 28 días.....36
6	Consumo de alimento.....37
7	Tasa de crecimiento a 28 días.....39
8	Tasa de crecimiento.....40
9	Tasa de conversión alimenticia.....42
10	Relación hepatosomática.....44

Figuras de las evaluaciones biológicas los grupos de camarones alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado, suplementadas o no con vitamina E y/o ETQ.

11	Número de replicados con mortalidad $< 0 = a 40\%$47
12	Tasa de sobrevivencia a 28 días.....48
13	Tasa de sobrevivencia.....48
14	Tasa de consumo.....50
15	Tasa de crecimiento.....52
16	Tasa de conversión alimenticia.....54
17	Relación hepatosomática.....56

RESUMEN

Se realizó un bioensayo nutricional con dos diseños factoriales 1) 3X2 dietas conteniendo aceite fresco, medianamente oxidado o altamente oxidado (V.P.= 6, 50 y 100 meq/kg respectivamente), suplementadas con dos niveles de vitamina E (0 y 100 mg/kg DL α -tocoferil acetato); 2) 2X2 dietas conteniendo aceite altamente oxidado suplementadas con 2 niveles de vitamina E (0 y 100 mg de DL- α -tocoferil acetato) y 2 niveles de suplementación de antioxidante sintético etoxiquin (ETQ) (0 y 130 mg/kg de dieta), alimentando a juveniles de *Penaeus vannamei* de 250 mg de peso promedio durante 56 días.

Para los grupos bajo el diseño experimental 1 se encontró que a los 28 y 42 días, los camarones alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado presentaron tasas de consumo de alimento y crecimiento significativamente menores ($P < 0.05$); a los 56 días los camarones alimentados con dietas suplementadas con vitamina E mostraron una tasa de sobrevivencia significativamente mayor ($P = 0.004$). La relación hepatosomática aumentó con el alto grado de oxidación del aceite ($P = 0.07$).

Para el grupo bajo el diseño experimental 2, se encontró que a los 28 días los camarones alimentados con dietas suplementadas con ETQ presentaron una tasa de sobrevivencia significativamente mayor ($P = 0.012$). A los 56 días se encontraron aumentos en la tasa de consumo ($P = 0.067$), tasa de crecimiento ($P = 0.065$) y relación hepatosomática ($P = 0.07$) por efecto de la suplementación en ETQ.

Los resultados de este experimento sugieren que: 1) un grado alto de oxidación (VP=100 meq/kg) del aceite de pescado disminuye el consumo de alimento y como consecuencia el crecimiento, probablemente debido a la baja palatabilidad por los productos de la oxidación; 2) que las dietas no suplementadas con vitamina E a cualquier nivel de oxidación provocan mortalidades importantes; 3) y que la suplementación con ETQ fué benéfica en reducir la mortalidad (protección de la vitamina E en la dieta) y en mantener aceptables las tasas de consumo y crecimiento (protección de los ácidos grasos poliinsaturados).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



ABSTRACT

A 56 days feeding trial was conducted on *Penaeus vannamei* juveniles (0.25 g mean initial weight) with practical diets formulated under two factorial designs: 1) a 3x2 factorial design including three degrees of oxidation of the 7.5% supplemental menhaden oil (peroxide values PV of 6, 50 and 100 meq/kg oil) and two levels of supplemental DL- α -tocopheryl acetate (0 and 100 mg/kg diet); 2) a 2x2 factorial design with diets containing highly oxidized fish oil (PV 100 meq/kg) including two levels of supplemental DL- α -tocopheryl acetate (0 and 100 mg/kg diet) and ethoxyquin (0 and 130 mg/kg diet).

Under design #1, shrimps fed the highly oxidized oil had lower feed consumption and weight gain at 28 and 42 days ($P < 0.05$); at 56 days, shrimp fed supplemental vitamin E had a higher survival rate ($P = 0.004$). Feed conversion was not affected by the degree of oxidation ($P > 0.14$) nor vitamin E supplementation ($P > 0.19$).

Under design #2, shrimp fed supplemental ethoxyquin had higher survival rate at 28 days ($P = 0.012$). At 56 days, ethoxyquin provided also higher feed consumption ($P = 0.067$), weight gain ($P = 0.065$) and hepatosomatic rate ($P = 0.070$). Feed conversion was not affected by supplementation with vitamin E ($P > 0.51$) nor ethoxyquin ($P > 0.71$).

Results suggest that: 1) the fish oil rancidity diminished the feed consumption and, as a consequence, the weight gain, probably due to the low palatability of the oxidation products; 2) the vitamin E deficiency is responsible of high mortalities, whatever the oil oxidation level; 3) an ethoxyquin supplement is useful to diminish the mortality (as a vitamin E protector) and to maintain feed consumption and weight gain (as a poly-unsaturated-fatty acid's protector).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



I. INTRODUCCION.

Los aceites de pescado constituyen una de las principales fuentes de lípidos en los alimentos balanceados para las especies marinas cultivadas, en particular el camarón.

El cultivo de camarón es una actividad muy importante en México y representa una alternativa para elevar la producción de dicho crustáceo, ya que nuestro país cuenta con las características para esta actividad (terreno, clima y especies). Las estadísticas de 1994 (Rosenberry, 1994) reportan una producción por acuicultura de 12 000 toneladas con un incremento del 33% para México con respecto del año anterior.

El alimento generalmente representa el gasto mayor en los sistemas de producción de camarón y tiene un impacto directo en la calidad de agua y del producto final; por lo tanto, para que se lleven acabo con éxito las operaciones comerciales, es necesario considerar el aspecto nutricional, ya que se requieren de dietas balanceadas de buena calidad para cubrir los requerimientos nutricionales de las diferentes especies, y obtener una buena tasa de sobrevivencia, y de crecimiento, así como para lograr tasas de conversión óptimas en la etapa de pre-cría, engorda y de maduración (Cruz Suárez, 1993).

La eficiencia de los alimentos se determina por numerosos factores de los cuales la calidad de los ingredientes y la tecnología de procesamiento de alimentos son de gran impacto. De las consideraciones químicas que afectan la calidad de los ingredientes una de las más importantes a tomar en cuenta es el aspecto de la rancidez.

La rancidez o deterioro de grasas y aceites resulta en la formación de peróxidos, radicales libres, aldehídos y polímeros de ácidos grasos y una reducción adicional del valor nutritivo de los ingredientes y alimentos. La oxidación y la formación de radicales libres puede resultar en una disminución de la palatabilidad, pésimas tasas de conversión alimenticia, reducción del crecimiento, daño a la salud animal e inmunodeficiencias. La oxidación de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) puede también conducir a deficiencias nutricionales ya que las vitaminas son esenciales para la salud y nutrición animal

(Subramayan, 1994).

Productos tales como el aceite y las harinas de pescado o subproductos marinos que son muy utilizados en la elaboración de alimentos acuícolas son altamente susceptibles a la oxidación durante su procesamiento. En México y en países tropicales donde se realiza el cultivo de especies peneidas, el almacenamiento del aceite de pescado en las plantas de alimentos, como el alimento en las granjas, muchas veces se realiza en condiciones que favorecen la oxidación. Por otro lado es necesario conocer la susceptibilidad de los camarones a los productos de la oxidación.

Los aceites de pescado se caracterizan por su alto contenido en ácidos grasos insaturados (HUFAS ω -3 y ω -6), los cuales son esenciales para el crecimiento normal y sobrevivencia, pero a la vez son altamente susceptibles a la oxidación. Estos ácidos son fácilmente destruidos durante la rancidez en los alimentos (por la peroxidación, resultando en productos tóxicos como peróxidos y aldehidos) a menos que sean protegidos por el uso de antioxidantes efectivos. Se ha demostrado una relación entre los niveles de ácidos grasos poliinsaturados y la cantidad requerida de vitamina E. Así mismo, debido a que el acetato de vitamina E no es un efectivo antioxidante en el alimento es necesario el uso de un antioxidante adicional. El etoxiquin (ETQ) ha demostrado servir para este propósito.

Diversos estudios demuestran efectos negativos por el uso de aceites oxidados sobre la salud de los peces; este efecto no es conocido en el camarón blanco, por lo que el presente trabajo se llevó a cabo para determinar el efecto de aceites de pescado con diferentes grados de oxidación, de la suplementación o no con vitamina E y de la utilización de un antioxidante sintético en el alimento sobre la nutrición del camarón blanco *Penaeus vannamei* y con estos datos se podrán sustentar las bases para el establecimiento de normas de control de calidad de este ingrediente para el crecimiento óptimo de la especie.

II. ANTECEDENTES

En la presente revisión bibliográfica, se describen primero el volumen de producción, el proceso de elaboración del aceite de pescado, el uso de aceite de pescado en nutrición animal, las necesidades particulares de los organismos acuáticos en ácidos grasos poliinsaturados, los requerimientos de vitamina E, así como avances recientes sobre los mecanismos de enranciamiento de los lípidos, especialmente de origen marino y la estructura de los principales antioxidantes, para después mencionar algunos estudios sobre el efecto de la rancidez de aceites alimenticios en peces, y citar unos de los escasos trabajos realizados sobre este tema en crustáceos.

II.1. LA PRODUCCION

Las capturas mundiales por pesca equivalen a aproximadamente a 101 millones de toneladas por año (Bimbo, 1990 B). En general, alrededor del 28% de las capturas mundiales es convertida en harina y aceite de pescado. Las especies convertidas en harina y aceite de pescado han sido llamadas de baja utilización, no tradicionales o especies latentes (Bimbo y Crowther, 1992).

Alrededor de 1.5 millones de toneladas de aceite de pescado son producidas anualmente en el mundo. Los aceites provienen de diferentes especies y de diversas partes del planeta. De acuerdo con la FAO (1986), la materia prima utilizada para la elaboración de harina y aceite de pescado queda incluida en diversas categorías:

- 1).- Peces capturados específicamente para la elaboración de harina y aceite tales como el menhaden, anchoveta y sardina.
- 2).- Captura incidental de otras pesquerías, ejemplo la fauna de acompañamiento del camarón con un volumen de 5 a 15 millones de toneladas (James, 1989; citado por Bimbo, 1990 B).
- 3).- Desperdicios de pescado procedentes de las plantas de fileteado, desperdicios de conservas de pescado, y más recientemente del procesamiento del surimi.

Las tres categorías tienen diversos puntos en común. Los peces son poco comestibles o la materia prima es un desperdicio sin valor comestible, y de hecho puede presentarse un problema potencial para su venta, y la materia prima contiene altos porcentajes de aceite y huesos (FAO 1986).

II.2. PROCESO DE REDUCCION DE LA MATERIA HUMEDA.

El procesamiento del pescado para producir aceite y harina de pescado, (exceptuando la extracción con solventes), generalmente emplea los mismos principios técnicos y equipo común para la producción de otras grasas y aceites comestibles. En general, los peces son procesados por el método de reducción de la materia húmeda, en la cual las principales operaciones son cocción, prensado, separación del aceite y emulsión de agua con la recuperación del aceite, y secado del material proteínico residual (Bimbo, 1990 A). El proceso de reducción de la materia húmeda es utilizado en la mayoría de las harineras que producen aceite de pescado en el mundo. Este proceso es universal, todas las fábricas a lo

largo y ancho del planeta, en tierra y en barcos, utilizan equipos con ligeras diferencias, pero las etapas importantes de cocción, prensado, separación y secado están siempre presentes. Este proceso puede dividirse en dos partes: el flujo de sólidos y el flujo de líquidos (Bimbo, 1990).

II.2.1. EL FLUJO DE SÓLIDOS

II.2.1.1. COCCIÓN

El pescado crudo entra a el proceso por transportadores desde el área de depósito del pescado hacia los cocedores. El propósito de la etapa de cocción es coagular la proteína de pescado, de manera que los líquidos y sólidos puedan ser separados mecánicamente. Se produce una ruptura en las células de grasa, liberando el aceite a la fase líquida (Bimbo, 1990 A).

II.2.1.2. EL PRENSADO

El pescado cocido es usualmente transportado a la prensa por un transportador inclinado de fondo perforado para eliminar el agua de la masa cocida. El propósito del prensado es separar, tanto como sea posible, la fase líquida de los sólidos contenidos en el pescado cocido (Bimbo, 1990 A).

II.2.1.3. SECADO

El pescado prensado es secado para producir harina de pescado. El secado reduce el contenido de humedad de manera que la harina de pescado es estable a la descomposición microbiológica (Bimbo, 1990).

II.2.2. EL FLUJO DE LÍQUIDOS

II.2.2.1. TRATAMIENTO DE LOS LÍQUIDOS DE PRENSADO

Los líquidos de prensado, es decir los eliminados en el transportador de fondo perforado y en la prensa, están constituidos por una mezcla de agua, aceite y sólidos. La composición típica de un líquido de prensado podría ser la siguiente: 79 % de agua, 6 % de sólidos y 16 % de aceite. Los sólidos están constituidos por sustancias disueltas y materiales en suspensión. El propósito de esta parte del proceso de elaboración consiste en separar lo mejor posible el aceite de la fracción acuosa y concentrar, por un procedimiento económico, los sólidos disueltos en el agua, para posteriormente añadirlos de nuevo al producto acabado (Windsor y Barlow, 1984).

II.2.2.2. DECANTACION

La primera operación consiste, generalmente, en filtrar el líquido de prensado para eliminar las partículas sólidas de mayor tamaño. Seguidamente se pasa el líquido a una centrífuga de decantación o eliminador de limos para separar los sólidos de menor tamaño que se hallan en suspensión. El decantador consiste en un rotor cilíndrico que posee interiormente un transportador cilíndrico. La fuerza centrífuga ejercida obliga a el líquido a trasladarse a la periferia del rotor, atravesándolo y pasando a la cara externa. El

transportador de tornillo rueda con el rotor, pero a una velocidad ligeramente inferior y retira de forma continua los sólidos de la superficie. El decantador se halla dispuesto de tal forma que estos sólidos se van eliminando continuamente por un extremo mientras que por el otro (con poca proporción de sólidos en suspensión) se elimina el líquido clasificado. Los sólidos pueden ingresar en el proceso y desecarse conjuntamente con la torta de prensado. Seguidamente el líquido de prensado se separa en dos fracciones: el aceite y la fracción acuosa conocida como agua de cola (stick water) Windsor y Barlow (1984).

II.2.2.3. SEPARACION

La separación del aceite y el agua de cola se realiza mediante una centrífuga continua generalmente del tipo de discos verticales. En ellas se produce una acumulación de limos cuya descarga periódica puede programarse. La centrífuga contiene una serie de discos cónicos perforados, superpuestos a una distancia entre ellos de 0.5 a 2 mm, de forma que el líquido pueda así atravesarlos. El líquido a centrifugar penetra por el centro en la centrífuga. Los aceites, menos densos, permanecen en él y salen por el otro extremo mientras que el agua de cola es desplazada hacia los conos. La separación de los conos puede ajustarse y esto permite mejorar la separación de las dos fracciones (Windsor y Barlow, 1984).

II.2.2.4. PURIFICACION

La última operación consiste en la "purificación" (abrillantado) del líquido obtenido que se realiza en otras centrífugas, para eliminar por completo los sólidos y la fracción acuosa, que provocarían una rápida alteración del aceite durante su almacenamiento. Para ello se añade al agua caliente y se centrifuga controlando cuidadosamente la temperatura ya que la densidad y la viscosidad del aceite dependen de ella de gran manera. Para ésta operación resulta adecuada la temperatura de 95 °C. El aceite purificado por este procedimiento se almacena a continuación en tanques limpios y secos siendo esta última operación que siguen los aceites en una fábrica de harina de pescado (Windsor y Barlow, 1984).

II.3. UTILIZACION DE ACEITE DE PESCADO EN LA NUTRICION ANIMAL

Los aceites de pescado han sido utilizados en alimentos para animales por muchos años. Tienen efectos promotores de crecimiento, son una fuente de energía barata, y frecuentemente contienen cantidades significativas de vitaminas A y D. Son utilizados además por el beneficio de su amplio espectro de ácidos grasos (Karrick, 1990). Los coeficientes de digestibilidad de los aceites marinos reflejan su valor alimenticio y promotor de crecimiento; análisis de diferentes laboratorios sobre diferentes animales reportan altos valores de digestibilidad para los aceites de pescado (Artman 1964; Deuel 1954; Leoschke 1959; Reder 1942; citados por Karrick, 1990).

II.3.1. VITAMINAS LIPOSOLUBLES

Muchas especies de peces almacenan gran cantidad de vitaminas A y D en sus hígados. Las cantidades de estas vitaminas varían ampliamente, no sólo entre las diferentes

especies (Bill et al. 1935; citado por Karrick, 1990), si no también en peces de una misma especie. Esta variación en una misma especie depende de la edad, sexo y tamaño. El aceite de menhaden por ejemplo, contiene entre 200-500 unidades de vitamina A por gramo y 50-100 unidades de vitamina D por gramo.

Los aceites de pescado contienen una cantidad variable de vitamina E. Einset y colaboradores (1957; citados por Karrick 1990) reportaron las siguientes cantidades en aceites comerciales: arenque 140, menhaden 70, y atun 160 microgramos por gramo de aceite. La variación del contenido de vitamina E, quizá explique parcialmente las diferencias en la estabilidad de varios aceites. La vitamina E no es un antioxidante químico pero juega un rol *in vivo* en la protección intracelular (Privett y Cortesi 1972; citado por Karrick, 1990). Adecuar la cantidad de vitamina E es crítico en las dietas debido a las enfermedades que resultan de las deficiencias y porque altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados incrementan los requerimientos de vitamina E para algunos animales. El efecto protector de la vitamina E en los animales esta relacionada a la forma dietética del tocoferol, así como a la presencia o ausencia de selenio y ácido ascórbico (vitamina C) (Halver, 1985; citado por Karrick, 1990).

Muchas especies de animales desarrollan distrofia muscular nutricional debido a deficiencias de vitamina E. Las diferencias entre las especies son aparentes y los requerimientos para vitamina E entre las especies estan relacionados a la poliinsaturación de las grasas en las dietas. Martill y Golumbic (1942, citado por Karrick, 1990) establecieron que la distrofia muscular inducida por el aceite de hígado de bacalao fué la misma distrofia muscular nutricional producida en animales por falta de vitamina E. Matill (1938, 1940; citado por Karrick, 1990) previamente había cuestionado la acción tóxica directa del aceite de bacalao y demostró que la vitamina E fué oxidada en presencia de ácidos grasos insaturados sometidos a oxidación. La vitamina E puede prevenir la distrofia muscular en peces (Halver, 1989; citado por Karrick, 1990).

Una de las investigaciones más importantes sobre el requerimiento de vitamina E del camarón blanco *Penaeus vannamei* fué realizada por He et al. (1992) al alimentar a postlarvas de *P. vannamei* de 40 mg de peso promedio durante ocho semanas con dietas semipuras deficientes en vitaminas 1) A, 2) D, 3) E, 4) K y un control (suplementada con todas las vitaminas), se observó que después de 14 días los camarones alimentados con dieta deficiente en vitamina E presentaron una tasa de sobrevivencia y de crecimiento significativamente menor que el control, la mayoría de los camarones alimentados con esta dieta presentaron obscurecimiento del hepatopáncreas lo cual no se observó en otros tratamientos, estos resultados demostraron la esencialidad de la vitamina E para el camarón. En otro experimento He y Lawrence (1993), alimentaron a postlarvas (PL5-6) de *P. vannamei* de 0.14 g de peso promedio con dietas semipuras con diferentes niveles de vitamina E: 0, 25 50, 100, 200, 400 y 600 mg/kg de dieta de vitamina E, no suplementadas con antioxidante sintético y otra dieta conteniendo sólo 16 mg/kg de dieta de BHT sin vitamina E, durante ocho semanas; se encontró que el nivel de vitamina E de 100 mg/kg de dieta fué satisfactorio para dar un buen crecimiento y una mínima peroxidación de los

lípidos de las biomembranas estimulada por el ácido ascórbico. En este experimento no se encontraron signos de deficiencia de vitamina E como baja sobrevivencia y obducimiento del hepatopáncreas como se había encontrado en previos estudios.

II.3.2. ACEITES DE PESCADO EN DIETAS PRACTICAS

Todos los animales pueden utilizar aceites de pescado de buena calidad como fuente de energía y para crecimiento cuando los aceites son incluidos en dietas balanceadas adecuadamente fortificadas con vitaminas. Los aceites son igualmente adicionados como una alternativa para cambiar la composición de ácidos grasos en la grasa de los productos terminados. La cantidad y calidad del aceite y las condiciones de alimentación de los animales deben ser controlados para evitar el desarrollo de sabores indeseables o malos productos después que se han almacenado en congelación. Esto no sólo se aplica al aceite sino también a los productos de las pesquerías como las harinas de pescado (Karrick, 1990).

Por otra parte los aceites de pescado al ser una fuente pura de lípidos, mejoran el rendimiento de producción en la tecnología de los alimentos, ya que reducen los finos, sirven como atrayentes y pueden afectar la textura del alimento (Akiyama, 1989; Tacon, 1987). Los niveles recomendados para los lípidos en dietas comerciales para camarón, varían de 6 a 10 %, ya que a niveles superiores se han observado bajos crecimientos y altas mortalidades.

II.4. REQUERIMIENTOS DE ACIDOS GRASOS ESENCIALES

Debido a que los animales no tienen la capacidad metabólica para sintetizar de novo, ácidos grasos de las series linoleica (ω -6) y linolénica (ω -3), dichos ácidos deberán ser incorporados en forma ya elaborada a la dieta. En el caso de animales terrestres, se ha encontrado que las series linoleicas (ω -6) muestran la mayor actividad de ácidos grasos esenciales, mientras que las series linolénicas (ω -3) tienen una actividad parcial de ácidos grasos esenciales. Consecuentemente los ácidos grasos poliinsaturados que predominan en los tejidos de animales terrestres pertenecen a la serie linoleica, a saber 18:2 ω -6 (ácido linoleico) y 20:4 ω -6 (ácido araquidónico) (Tacon, 1989).

Por el contrario, los ácidos grasos poliinsaturados más abundantes en los tejidos de peces y crustáceos, tanto para especies dulceacuícolas como marinas, pertenecen a la serie linolénica (ω -3). Mientras que los ácidos grasos poliinsaturados de la serie linoleica (ω -6) se presentan a una concentración más baja; sin embargo, en especies dulceacuícolas se han reportado niveles mayores de la serie linoleica (ω -6). Quizás esto no sea sorprendente si se considera que las dietas de peces de agua dulce contienen elementos derivados a partir de fuentes terrestres, que consecuentemente son ricas en ácidos grasos de las series linoleica (ω -6). De manera general se considera que los ácidos grasos de las series linolénicas (ω -3), permiten un grado mayor de insaturación, requisito indispensable para una mayor fluidez de membranas, flexibilidad y permeabilidad a bajas temperaturas. De hecho, se piensa que el requerimiento dietético (preferencial) de los peces, para la serie linolénica (ω -3) de ácidos

grasos esenciales, sobre la serie linoleica (ω -6) se debe fundamentalmente a la baja temperatura de su medio acuático (en comparación de los mamíferos). Entre más baja sea la temperatura, mayor será la incorporación de ácidos grasos poliinsaturados de las series linolénicas (ω -3) en los tejidos (Tacon, 1989).

Las principales funciones de los ácidos grasos esenciales (AGE) están asociados a su papel como componentes de fosfolípidos y precursores de prostaglandinas. Los ácidos grasos linoleico (18:2 ω -6), linolénico (18:3 ω -3), eicosapentaenoico (20:5 ω -3) y docosahexaenoico (22:6 ω -3), son considerados como esenciales para el camarón; en *P. japonicus* los ácidos eicosapentaenóico y docosahexaenóico mostraron ser más efectivos como esenciales que el linoleico y linolénico, debido posiblemente a la limitada capacidad de conversión del camarón (Kanazawa et al. 1977, 1979).

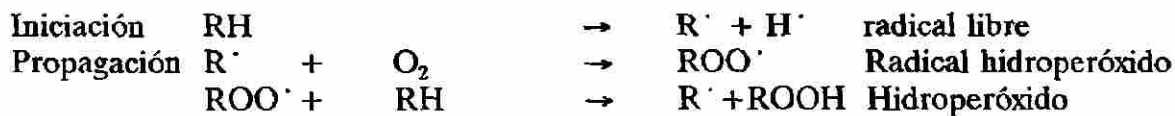
Los aceites provenientes de peces marinos, camarones y moluscos, son fuentes ricas de ácidos grasos esenciales de las series linolénicas (ω -3); ejemplos de aceites cuyo contenido en ácidos eicosapentaenoico (20:5 ω -3) y docosahexaenoico (22:6 ω -3) representa más del 20% del total de ácidos grasos, incluyen el aceite de hígado de bacalao, aceite de sardina, el aceite de barrilete, aceite de cabeza de camarón y aceite de hígado de calamar (Tacon, 1989). Los niveles recomendados de ácidos grasos en dietas comerciales para camarón son de 0.4 % para cada uno de los siguientes: 18:2 ω -6, 18:3 ω -3, 20:5 ω -3 y 22:6 ω -3 según Akiyama (1991).

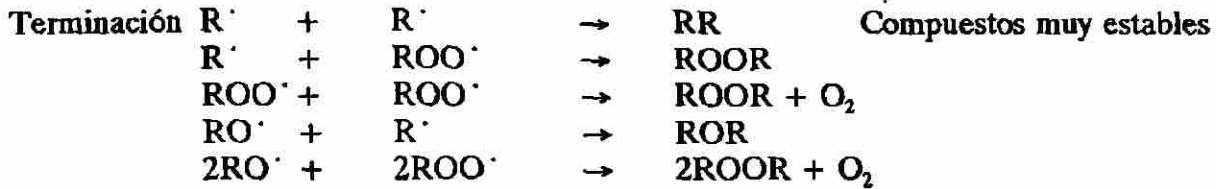
II.5. MECANISMOS DE ENRANCIAMIENTO DE LÍPIDOS

A raíz de que se utilizan cantidades importantes de harina y aceite de pescado en alimentación de peces y crustáceos, la oxidación y rancidez de los lípidos de pescado han sido de mayor interés.

La composición de lípidos en el aceite de pescado se caracteriza por altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (C20 y mayores) de la familia de los ácidos linolénico (n-3), los cuales en los camarones cumplen funciones de ácidos grasos esenciales (Tacon, 1989).

Debido a la presencia de dobles ligaduras, los ácidos grasos poliinsaturados son muy susceptibles a la oxidación, la cual cuenta con 3 pasos principales: iniciación, propagación y terminación (Badui Dergal, 1993). La reacción de iniciación es catalizada principalmente por la presencia de metales, oxígeno, luz y temperatura. En términos generales, siempre se requiere de algún agente catalizador para efectuar este primer paso. Durante la etapa de iniciación, se sustrae uno de los átomos de hidrógeno adyacente a la doble ligadura, formándose un radical libre al cual el oxígeno se puede unir fácilmente:





En la etapa de propagación, la adición de una molécula de O_2 a cada radical libre genera la formación de otro radical libre y de una molécula de hidroperóxido. La formación de radicales libres perdura así hasta agotar los ácidos grasos poliinsaturados mientras se acumulan los hidroperóxidos, sustancias muy inestables y reactivas. La oxidación es amplificada con la presencia de compuestos que contienen hierro o cobre, como lo es parte del músculo rojo de la carne, así como los implementos utilizados durante el procesamiento.

En la etapa de terminación, los radicales libres de ácidos grasos e hidroperóxidos se asocian o se rompen para dar compuestos no radicales estables, entre los cuales están los aldehídos y cetonas de bajo peso molecular, responsables del "olor a rancio".

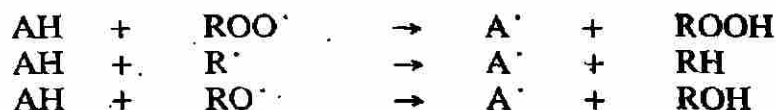
Los principales problemas implicados por la oxidación de los ácidos grasos de los lípidos de pescado son: disminución del valor nutricional de los lípidos, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados cumplen funciones de ácidos grasos esenciales y su disponibilidad se ve reducida; destrucción de las vitaminas liposolubles, especialmente la vitamina E y la vitamina A; generación de hidroperóxidos, sustancias reactivas que causan degradación de proteínas y aminoácidos.

Los efectos *in vitro* que ejercen los hidroperóxidos sobre las proteínas son: la pérdida de la actividad enzimática; pérdida de la solubilidad de la proteína debido a la formación de complejos y agregados; ruptura de las cadenas, y pérdida de algunos aminoácidos específicos, como la cisteína, lisina, histidina y metionina. Los radicales libres producidos por los hidroperóxidos no rompen los enlaces disulfuro de las proteínas, pero sí generan radicales de azufre a partir de proteínas con grupos sulfhidrilos libres (Badui Dergal, 1993). Todo esto lleva a que los aminoácidos presentes en un alimento no sean disponibles para el organismo; logrando con ello que todo el alimento tenga un pobre valor nutritivo, y genere un pobre crecimiento para el organismo que lo consume.

II.6. MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTIOXIDANTES

La oxidación de los aceites de pescado se puede retardar de diversas maneras; uno de los métodos más comunes de controlar la oxidación es mediante el uso de diferentes antioxidantes, los cuales pertenecen a varias categorías fundamentales: secuestradores de oxígeno (ácido ascórbico y ascorbil palmitato), queladores de metales (ácido cítrico, EDTA, aminoácidos), y donadores de protones. A este último grupo pertenece el etoxiquin (ETQ) y los antioxidantes fenólicos: tocoferoles naturales y sintéticos, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propilo y terbutilhidroxiquinona (TBHQ). Estos compuestos tienen una estructura química común consistente en un anillo aromático

insaturado y grupos hidroxilo que funcionan como donadores de hidrógeno. La presencia del grupo hidroxilo en el anillo aromático del fenol es necesaria para que estos compuestos tengan actividad antioxidante. Los donadores de hidrógeno (antioxidantes primarios) actúan en los pasos de iniciación y propagación de la oxidación, modificando la actividad de los radicales ácido graso o hidróperóxidos, según el mecanismo siguiente:



El radical A^\cdot que se forma es relativamente estable y no reacciona con los lípidos, sufre una reacción de paro, que conduce a la formación de productos no radicales:



Estas sustancias antioxidantes disminuyen el número de radicales libres y por lo tanto bajan la velocidad de oxidación y prolongan el período de inducción de la oxidación (Cheftel, 1976); se consumen en la reacción y por lo tanto, la estabilidad del lípido siempre va a depender de la cantidad residual del aditivo que contenga.

Sin embargo, existe un sinergismo entre las diferentes clases de antioxidantes, lo que permite bajar la dosis de aplicación. El sinergismo ocurre en la combinación de antioxidantes preventivos (queladores de metales, secuestradores de oxígeno) y curativos (donadores de protones que bloquean la propagación de la reacción), pero también entre mismos donadores de protones; por ejemplo:

- ácido cítrico con galato de propilo
- ácido ascórbico (vitamina C) con α -tocoferol (vitamina E)
- BHA con BHT.

En el caso de la asociación de las vitaminas C y E, se ha demostrado *in vitro* que la vitamina E inactiva a los radicales ácido graso y peróxido más rápido que la vitamina C, pero el resultante radical libre de alfatocoferol es regenerado por la vitamina C; resultando en la conservación del nivel de alfa tocoferol, mientras se agota el ácido ascórbico (Niki, 1987; en Papas, no publicado).

Los tocoferoles también tienen un marcado sinergismo con los fosfolípidos, especialmente la fosfatidiletanolamina (FE) (la presencia de FE permite duplicar la duración de la etapa de inducción), aunque los fosfolípidos solos no tengan ningún efecto antioxidante (al contrario, sus propios ácidos grasos poliinsaturados son perfectamente susceptibles de oxidarse) (Ohshima et al. 1993). Esta actividad sinérgica de la FE con los tocoferoles se desarrolla a través de reacciones de Maillard del residuo etanolamina de la FE con algunos productos de oxidación (cadenas carbonadas) de los ácidos grasos poli-

insaturados, y es favorecida por altas temperaturas (Fujita et al., 1994).

Otra particularidad de los tocoferoles es su termoestabilidad, que los hace más remanentes en productos cocidos o fritos (Daugherty, sin año), y por ejemplo en alimentos peletizados o extruidos.

II.7. EFECTO DE LA RANCIDEZ EN ALIMENTOS PARA PECES

El uso de alimentos rancios puede resultar en una disminución del consumo (pérdida de palatabilidad), bajos crecimientos, deficiencias nutricionales, disminución de las defensas naturales y aumento de la incidencia de enfermedades (New, 1990; Obach y Baudin Laurencin, 1992).

El efecto de aceites oxidados de pescado en carpas *Cyprinus carpio* ha sido estudiado en Japón (Hashimoto et al. 1966, Watanabe et al. 1966; citados por Opstvedt, 1985), alimentando carpas (3 a 5 g) con 10 % de aceite oxidado (valor peróxido 150 meq/kg) de pescado, suplementadas o no con acetato de α -tocoferol o antioxidantes sintéticos, en dietas bajas en grasas, durante 120 días. Las carpas alimentadas con el aceite oxidado sin la suplementación de acetato de α -tocoferol, presentaron un ritmo de crecimiento reducido y aumento de la mortalidad, lo que fué contrareestado con la adición de 25 mg de acetato de α -tocoferol por kg de dieta, pero no con el antioxidante sintético. Parecería así que los lípidos de pescado que están oxidados (es decir valor peróxido mayor a 50 meq/kg lípido) son tóxicos para los peces aún a niveles bajos en las dietas que no contienen acetato de α -tocoferol. Sin embargo, cuando las dietas contienen α -tocoferol (es decir 25 mg de acetato de α -tocoferol/kg más antioxidantes sintéticos) aún aquellos lípidos extremadamente oxidados (es decir, más de 100 meq/kg de V.P.) no parecen presentar efectos nocivos.

Se estudió el efecto del aceite oxidado de pescado en la alimentación de bagres de canal *Ictalurus punctatus* por Murai y Andrews (1974). Es un experimento diseñado factorialmente; el aceite de pescado oxidado a un valor peróxido de 60 meq/kg aceite fué agregado en niveles de 0, 1 o 10 % a las dietas semipuras que contenían niveles variables de acetato de α -tocoferol (dosis de 0, 25 y 100 mg/kg) o etoxiquinin (dosis de 0 y 125 mg/kg). Los bagres alimentados con aceite oxidado de pescado, hasta en una tasa de 1 %, sin acetato α -tocoferol o etoxiquinin, presentaron una reducción del ritmo de crecimiento, eficiencia en la conversión de alimentos, aumento de la mortalidad y exhibieron síntomas de deficiencia de vitamina E. Los efectos toxicológicos del aceite oxidado, se evitaron totalmente mediante la adición de 25 ppm de acetato de α -tocoferol, más 125 ppm de etoxiquinin o mediante 100 ppm de acetato de α -tocoferol, pero no con etoxiquinin sola.

Los efectos del aceite de pescado oxidado en dietas para trucha arcoiris *Salmo gairdneri* han sido estudiados en Canadá. Hung y Slinger (1980) en dos experimentos administraron aceite de pescado levemente oxidado (valor peróxido = 25 meq/kg aceite) o aceite de pescado moderadamente oxidado (valor peróxido = 51 meq/kg aceite) a truchas de 150 g, y aceites altamente oxidado (valor peróxido = 120 meq/kg aceite) o extremadamente oxidado (valor peróxido = 314 meq/kg aceite) a truchas de 258 g

respectivamente. Se utilizó como control un aceite de pescado fresco, no oxidado (VP = 6 meq/kg aceite). Los aceites fueron agregados a un nivel del 7.5 % a dietas prácticas peletizadas que contenían un 20 % de harina de pescado de capelina, 33 mg de acetato de α -tocoferol por kg de dieta, a excepción de una dieta que contenía aceites de pescado extremadamente oxidados a la cual no se le agregó acetato de α -tocoferol. Después de 24 semanas con esta alimentación no se observaron diferencias entre las truchas alimentadas con aceites frescos u oxidados suplementados con acetato de α -tocoferol, con respecto a incremento de peso vivo, eficiencia de la conversión alimenticia, mortalidad, valores hematológicos o concentración de ascorbato en el hígado. Las truchas alimentadas con aceite de pescado extremadamente oxidado sin suplemento de acetato de α -tocoferol, habían aumentado su mortalidad y reducido los valores hematológicos y contenido de ascorbato en el hígado en relación a las truchas alimentadas con la dieta control. En este estudio, el aceite oxidado no afectó la tasa de crecimiento, ni la eficiencia de la conversión de alimentos.

En un estudio diferente, Hung et al (1981a) alimentaron con aceites de pescado fresco (valor peróxido = 7 meq/kg de aceite), ligeramente oxidado (valor peróxido = 25 meq/kg) o moderadamente oxidado (valor peróxido = 50 meq) a truchas de 2.5 g durante 24 semanas. El aceite fue agregado a un nivel de 7.5 % a dietas prácticas peletizadas que contenían 20 % de harina de capelina, y 33, 66 y 99 mg de acetato de α -tocoferol por kg de dieta, respectivamente. Los resultados no revelaron diferencias significativas entre el aceite fresco y el oxidado con respecto al incremento de peso vivo, eficiencia de la conversión alimenticia, composición del cuerpo, valores hematológicos y actividad de la enzima glutatión peroxidasa en el plasma. Sin embargo, el aceite moderadamente oxidado redujo la concentración de α -tocoferol en el hígado, lo que se debió aparentemente a la reducción del contenido de vitamina E en las dietas después de su peletización y almacenamiento.

Un tercer estudio de Hung et al (1981b) consistió en suministrar aceite de pescado fresco (valor peróxido = 5 meq/kg aceite) u oxidado (valor peróxido = 120 meq/kg aceite) a truchas de 2 g durante 24 semanas, con dos niveles de acetato de α -tocoferol (0 y 33 mg/kg dieta) o dos niveles de etoxiquín (0 y 120 mg/kg) en un experimento diseñado factorialmente. El aceite de pescado fue agregado a dietas prácticas peletizadas que contenían un 20 % de harina de capelina. Dietas conteniendo aceite oxidado redujeron el contenido de α -tocoferol basal y de ácidos grasos poliinsaturados en las dietas después de 24 semanas de almacenamiento. Las truchas alimentadas con aceites oxidado de pescado sin suplementación de acetato α -tocoferol presentaron aumento de la mortalidad y reducción del nivel de vitamina E, lo cual no se contrarrestó con la suplementación de etoxiquinín con excepción de una leve mejoría en la mortalidad. La suplementación de 33 mg de acetato de α -tocoferol evitó los efectos toxicológicos del aceite oxidado de pescado. La alimentación de aceite oxidado de pescado no produjo efectos en las tasas de crecimiento, eficiencia de la conversión alimenticia o en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en el plasma a presencia de suplementación de acetato de α -tocoferol o etoxiquinín.

11.9. EFECTO DE LA RANCIDEZ EN ALIMENTOS PARA CAMARON

La importancia de la rancidez en la nutrición del camarón ha sido demostrada por De la Cruz et al. (1989), quienes estudiaron el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el valor alimenticio de un alimento experimental formulado para *Penaeus monodon*.

Estos autores compararon el crecimiento de camarones recibiendo alimentos conservados durante 10 semanas a 0°C, 10°C, temperatura ambiente (28-31°C) y 40°C. Los alimentos contenían 45% de proteína cruda, 17.6% de grasa cruda (de fuentes marinas principalmente), una forma no estabilizada de vitamina C y ningún otro antioxidante ni conservador.

En 10 semanas los camarones crecieron 2 veces más con alimento conservado a 0 o 10 °C que con el alimento almacenado a 40°C. El alimento mantenido a temperatura ambiente también dió un crecimiento inferior al de los alimentos conservados en refrigeración. Esos efectos fueron detectables ya en la cuarta semana de experimento. El aumento en la temperatura de almacenaje también se acompañó de una reducción en la sobrevivencia, una reducción de la tasa de eficiencia alimenticia y la aparición de lesiones de necrosis de las células del hepatopáncreas. De la Cruz et al. observaron un aumento en el valor de peróxidos de las dietas almacenadas a temperaturas arriba de 10°C y recomiendan no mantener los alimentos a temperaturas ambientales tropicales durante más de 15 días.

El interés de este trabajo fue subrayado por New (1990) quien observa que esta última recomendación parece difícilmente alcanzable a nivel comercial, ya que los alimentos son almacenados por el fabricante y el distribuidor antes de la venta, así como por el comprador en su granja, pero lo importante es usar ingredientes de calidad, vitaminas estabilizadas, conservadores y antioxidantes en los alimentos para camarón.

Recientemente, Koshio et al (1994), estudiaron en el camarón *P. japonicus* el efecto de niveles leves de oxidación de lípidos, frecuentemente obtenidos en la practica comercial en razón del proceso de fabricación y del almacenamiento a temperaturas tropicales; esos autores oxidaron muestras de aceite de pescado, de calamar y de maíz por burbujeo de aire a la temperatura de 40°C hasta obtener niveles de peróxidos crecientes con un máximo de 45 meq/Kg.

Un primer experimento se realizó sobre el período de desarrollo larval, incorporando los aceites al 10% en dietas microparticuladas. Esas dietas eran constituidas de sustancias purificadas (caseína, almidón, etc.) y suplementadas al 1% con ácidos grasos poliinsaturados en ω -3. Las larvas alimentadas con aceites oxidados alcanzaron el estadio postlarval (PL 1) más tarde: el porcentaje de PL1 a los 10 días fue de 67% con el aceite de pescado fresco (valor de peróxido de 1.7 meq/Kg) contra 44.5% con el aceite moderadamente oxidado (VP 38.6 meq/Kg). El comportamiento de las larvas fue afectado (actividad natatoria débil) y su longitud fue significativamente reducida por el grado de oxidación de los aceites (4.1

± 0.2 mm para el aceite fresco contra 3.6 ± 0.2 mm para el aceite de pescado oxidado).

Un segundo experimento consistió en alimentar juveniles de peso inicial 0.19 g durante 30 días, con dietas conteniendo 10% de los aceites experimentales, sin suplementación en ácidos grasos poliinsaturados. Se usaron aceites de maíz y pescados con valores de peróxidos crecientes de 0.6, 29.9, 44.3 y 1.9, 35.3, 45.8 meq/Kg respectivamente.

El porcentaje de los ácidos grasos de la serie linolénica en los lípidos neutros de las dietas era mucho mayor para las dietas con aceite de pescado (13-16%) que con aceite de maíz (0.4-0.6%), y la oxidación del aceite generó una disminución sensible del porcentaje de ácidos grasos 20:5 ω -3 y 22:6 ω -3 en los lípidos neutros. Al contrario, el porcentaje de esos ácidos grasos quedó muy bajo en los lípidos neutros de las dietas con aceite de maíz, a cualquier nivel de oxidación.

En lípidos polares, la oxidación disminuyó el nivel de ácidos grasos ω -3 tanto en la dieta con aceite de pescado, como de maíz.

Al final del experimento el peso promedio como la sobrevivencia y la conversión alimenticia fueron más afectados por el tipo de aceite (maíz contra pescado) que por el grado de oxidación. En dietas con aceite de pescado, sólo el grado de oxidación moderado (PV 48.8 meq/kg) logró disminuir de manera significativa la tasa de eficiencia alimenticia en larvas.

Los autores concluyen que los niveles críticos de peróxidos serían de 13 a 35 meq/kg respectivamente para larvas y juveniles de *P. japonicus*. Es importante subrayar que este experimento se llevó a cabo con fórmulas a base de ingredientes puros, muy alejadas de fórmulas comerciales, y por lo tanto, no se pueden aplicar directamente esas recomendaciones debido a que generalmente no se utilizan ingredientes puros en la fabricación de alimentos balanceados.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

III.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- 1 Determinar el efecto de los lípidos oxidados, de la suplementación con vitamina "E" y del uso de un antioxidante sintético sobre la calidad nutricional de un alimento para camarón.
- 2 Relacionar la calidad nutricional de aceites y alimentos para camarón con los indicadores del grado de oxidación: valor peróxido, número de ácido tiobarbitúrico y valor anisidina.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- 1 Determinar índices del grado de oxidación en un aceite de pescado sometido a oxidación creciente y en los lípidos de las dietas experimentales después de la peletización y almacenamiento.
- 2 Estudiar la estabilidad de la vitamina "E" y de los ácidos grasos ω -3, ω -6 en el aceite de pescado sometido a oxidación creciente y en los lípidos de las dietas experimentales después de la peletización y del almacenamiento.
- 3 Determinar el efecto nutricional, toxicológico e histopatológico de aceite de pescado con diferentes grados de oxidación en alimentos para camarón blanco *Penaeus vannamei*.
- 4 Determinar el efecto nutricional, en camarón, de la suplementación con vitamina "E" en las dietas experimentales con aceite de pescado fresco y oxidado.
- 5 Evaluar el efecto nutricional, en camarón, de un antioxidante sintético suplementario como estabilizador de la vitamina "E" y de los lípidos dietéticos.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

IV.- HIPOTESIS

Los aceites de pescado oxidados disminuyen el crecimiento, aumentan la tasa de conversión alimenticia, aumentan la mortalidad, reducen el contenido de vitamina "E" y causan histopatología en el camarón blanco (*Penaeus vannamei*).

V.- MATERIAL Y METODO

V.1. ACEITE DE PESCADO EXPERIMENTAL

Para determinar el efecto del grado de oxidación de aceite de pescado, sobre la nutrición del camarón blanco *Penaeus vannamei*, se adquirió un lote de aceite de pescado fresco, libre de antioxidante, de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) de calidad certificada (Tabla No. 1 y 2) proporcionado por Mr. Anthony P. Bimbo, Director of Applied Development, de Zapata Proteins Inc., Menhaden Oil Refinery, Reedville Virginia U.S.A.

Tabla No. 1.- ESPECIFICACIONES DEL ACEITE DE PESCADO (MENHADEN) EXPERIMENTAL.

Acidos grasos libres	0.50 %	Max
Valor Iodo	175-200	
Humedad e impurezas	0.50 %	Max
Color, Gardner	8	Max
Heat Bleach Color	6	Max
Valor peróxido, meq/kg	10	Max

Tabla No. 2.- COMPOSICION TIPICA DE ACIDOS GRASOS (%) DEL ACEITE DE PESCADO (MENHADEN) EXPERIMENTAL.

C14:0	6.85	C20:0	0.17
C15:0	0.46	C20:1	1.48
C16:0	14.83	C20:2	0.18
C16:1	9.74	C20:3	0.37
C16:2	1.62	C20:4	2.09
C16:3	1.51	C20:5	14.16
C16:4	1.53	C21:5	0.76
C17:0	0.38	C22:0	0.10
C18:0	2.55	C22:1	0.33
C18:1	9.58	C22:4	0.24
C18:2	1.93	C22:5	2.82
C18:3	1.48	C22:6	10.26
C18:4	3.09	C24:0	0.60
C19:0	0.00	C24:1	0.22

V.1.1. OXIDACION ACELERADA Y CONTROLADA DEL ACEITE EXPERIMENTAL.

Este aceite fué sometido a oxidación controlada y acelerada con el método del oxígeno activo (A.O.M., método oficial AOCS Cd. 12-57, 1989; ver anexo I) en el laboratorio de nutrición del programa Maricultura en la F.C.B. de la U.A.N.L.

El proceso de oxidación se llevó a cabo 7 veces en 6 tubos con 25 ml de aceite cada uno, para completar un litro de aceite medianamente oxidado; se procedió de igual manera para obtener un litro de aceite altamente oxidado.

V.1.2. EVALUACION QUIMICA DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE.

Se realizaron cinéticas de oxidación del aceite de pescado para conocer su comportamiento al someterlo a oxidación creciente, monitoreando el desarrollo de la oxidación con las técnicas: ¹ V.P., # de T.B.A. y V.A..

Se tomaron muestras del aceite de pescado con tres niveles de oxidación: fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado definidos de acuerdo al modelo de Hung *et al.*, 1980 y 1981. Después de la oxidación se añadió a los aceites de pescado 130 mg de etoxiquin (ETQ) por kg con el fin de detener el curso de la oxidación y se almacenaron en refrigeración para las determinaciones químicas.

Los análisis de V.P., # de TBA y V.A. se realizaron en el laboratorio del programa Maricultura de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Muestras de aceite fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado fueron enviadas al laboratorio de RALSTON-PURINA en St. Louis Missouri U.S.A. para el análisis de ácidos grasos libres, valor peróxido y # de T.B.A., a Zapata Proteins, Virginia, U.S.A. para el análisis de perfil de ácidos grasos en cada una de las muestras (Analizadas por Mrs. Gloria Seaborn of the U.S. Dept. of Commerce, National Marine Fisheries Service Lab. in Charleston, South Carolina, U.S.A.), y al Dr. William Shermer del laboratorio de NOVUS International, Inc., para el análisis de ETQ residual, valor peróxido y contenido de vitamina E.

V.2. INGREDIENTES EXPERIMENTALES

Para la elaboración de las dietas experimentales, que incluyen además del aceite de pescado, vitamina E y antioxidante sintético ETQ se adquirieron los siguientes

¹Debido a que no hay una técnica ideal que correlacione perfectamente bien los cambios en las propiedades de los lípidos oxidados durante el curso completo de la oxidación, en este trabajo se utilizaron y estandarizaron diferentes técnicas de evaluación de la oxidación: índice o valor de peróxidos (V.P., método oficial A.O.A.C. 995.33, 1990); número de ácido tiobarbitúrico (# T.B.A., Yu y Sinnhuber, 1967) y valor anisidina (V.A., List *et al.* 1974) (ver anexo II).

ingredientes:	Harina de pescado	(Proesa)
	Pasta de soya.	
	Harina de camarón.	
	Harina de trigo.	
	Gluten de trigo	
	Mezcla de vitaminas	
	Metionina	
	Monofosfato de sodio	
	Vitamina C	(Rovimix Stay C)

Para evitar parcialmente la interferencia generada a partir de lípidos aportados por los otros ingredientes presentes en la dieta, la harina de pescado y la harina de camarón fueron desgrasadas por medio del método de Bligh & Dyer (1959), debido a que estos ingredientes son las fuentes más importantes de lípidos en la dieta, ricas en ácidos grasos susceptibles a la oxidación, quedando entonces solamente una pequeña aportación de lípidos por el gluten, la harina de trigo y la pasta de soya (alrededor de 10% total de lípidos en la dieta).

La mezcla vitamínica fué elaborada con vitaminas protegidas (recubiertas), sin antioxidante, sin incluir en ella a la vitamina E y C, conforme a los requerimientos vitamínicos publicados por Akiyama et al. (1991). Esta mezcla vitamínica y la vitamina E fué proporcionada por el Ing. MsC. Roberto Tellez, Nutriologo especialista en mezclas vitamínicas de la Cia. Técnicas Nutricionales en Monterrey, Nuevo León, México.

El antioxidante sintético etoxiquin (ETQ) fué proporcionado por el Ing. Ricardo Soto C. Director de la Cia. Química Dresen productora de antioxidantes, Ecatepec, Edo. de México.

V.2.1. ANALISIS QUIMICO DE LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES

A cada uno de los ingredientes se les realizó: análisis bromatológico mediante el método, descrito por la A.O.A.C. (1990), el cual determina los siguientes parámetros:

Parámetro	Método
Proteína cruda	Kjeldahl
Grasa cruda	Soxhlet
Ceniza	Calcinación a 600 °C por 2 h
Fibra cruda	Filtración con fibra cerámica
Extracto libre de nitrógeno	Por diferencia
Humedad	Secado a 135 °C por 2 h

V3. DIETAS EXPERIMENTALES

Para establecer la dosis adecuada de suplementación con ETQ en las dietas se realizó un ensayo preliminar de elaboración de alimento experimental.

V.3.1. ENSAYO PRELIMINAR: DETERMINACION DE PERDIDA DE ANTIOXIDANTE POR EXTRUSION HUMEDA EN UN ALIMENTO PARA CAMARON.

OBJETIVO: Determinar la cantidad de antioxidante que se pierde durante la extrusión de un alimento experimental para camarón.

MATERIAL:

	Ingredientes	% de Inclusión	
1	Harina de Pescado	16.0	*Estabilizada con 125 ppm ETQ
2	Pasta de Soya	13.0	
3	Harina de Camarón	4.0	
4	Gluten de Trigo	5.0	
5	Harina de Trigo	53.18	
6	Mezcla Vitamínica	0.25	
7	Metionina	0.1	
8	Aceite de Pescado	6.86	*No estabilizado
9	Fosfato Monosódico	1.6	
10	Vitamina C	0.025	
11	Antioxidante	0.0105	

Molino de carne Tor-Rey modelo 22, Mezcladora Kitchen Aid modelo K45SS.

METODO:

Se mezclaron todos los ingredientes enlistados, excepto el antioxidante para completar 1 kg de mezcla. Se tomó una muestra de 200 g para el análisis de antioxidante residual de los ingredientes de la muestra y los 800 g restantes se estabilizaron con 109 mg de antioxidante etoxiquin y se juntaron con otros 2 kg de mezcla completa para obtener 2.8 kg de mezcla con una concentración de etoxiquin estimada a 134 ppm (tomando en cuenta el etoxiquin residual de la harina de pescado).

De ésta última mezcla se tomaron 100 g de muestra para el análisis de etoxiquin y el resto se extruyó en el molino de carne. Se tomaron muestras de alimento para el análisis de antioxidante residual: al inicio, a la mitad* y al final de extruir la mezcla de ingredientes.

* A la mitad del pelletizado se observó sobrecalentamiento.

El análisis de antioxidante residual se realizó en la Cía. Química Dresen mediante la extracción de etoxiquin con acetonitrilo, cuantificado por colorimetría comparandolo con estándares preparados con cantidades conocidas de etoxiquin disueltas en acetonitrilo.

RESULTADOS:

Se encontró que tanto en la mezcla sin antioxidante, como con antioxidante, el contenido de etoxiquin fué menor a lo esperado, por lo que se considera que se sobreestimó la cantidad de antioxidante residual encontrado en la harina de pescado estabilizada.

Muestra	Valor Esperado	Valor Encontrado
Mezcla sin antioxidante	20 ppm	< 5 ppm

Mezcla con antioxidante	134	ppm	110-120	ppm
Alimento al inicio	134	ppm	= 10	ppm
Alimento a la mitad	134	ppm	= 10	ppm
Alimento al final	134	ppm	= 10	ppm

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en el alimento procesado, indican que la pérdida de etoxiquin durante la peletización fue del orden de 100 ppm. En base a estos resultados se consideró que la dosis de etoxiquin suplementada en las dietas experimentales 1, 2, 3, 4, 6 y 8 (130 ppm) era la adecuada para contrarrestar la oxidación generada por extrusión sin generar residuos en exceso en las dietas experimentales.

V.3.2. FORMULACION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Se realizó la formulación de las dietas experimentales (Tabla No. 3) con un software de nutrición Mixit^{MR} (Agricultural Software Consultants, INC.) en función de los resultados del análisis químico proximal de los ingredientes experimentales para obtener dietas isoproteicas e isolipídicas, cubriendo los requerimientos nutricionales para los camarones peneidos publicados por Akiyama et al. (1991). Se formuló restringiendo los nutrientes: en un 30 % el aporte de proteína (harina de pescado y pasta de soya en una relación 1:1), a 7.5 % la inclusión de lípidos (aceite de pescado de menhaden), ceniza máximo 10%, extracto libre de nitrógeno mínimo 20 % máximo abierto, humedad máximo 10 %, fibra máximo 4 y energía bruta a 4.6 kilocalorías por gramo, sin tomar en cuenta los costos de los ingredientes. La dosis de vitamina E suplementada en las dietas correspondientes fue la reportada por He y Lawrence (1993), 100 mg/kg de dieta, como nivel óptimo en dar buen crecimiento sin generar un exceso que actúe como antioxidante, utilizando una extrusión húmeda para la fabricación del alimento, similar en nuestro caso; la dosis de vitamina C incluida en las dietas es la recomendada por Akiyama (1991).

V.3.3. PREPARACION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Se prepararon ocho dietas (dos kg de cada una de ellas) con los aceites de pescado con diferentes grados de oxidación, vitamina E y antioxidante manteniendo los demás ingredientes constantes. Todos los ingredientes se molieron finamente utilizándose un turbomolino Pulvex^{MR}, se pesaron de acuerdo a la formulación y se mezclaron en una batidora Kitchen Aid^{MR} modelo K45SS de 5 litros. Primero se mezclaron los macroingredientes (harina de pescado, pasta de soya, harina de camarón, gluten de trigo y harina de trigo) por un lapso de 20 min, posteriormente se tomó una porción de esta mezcla en un vaso de precipitado de 300 ml para adicionar los microingredientes (mezcla vitamínica, monofosfato de sodio, vitamina C y metionina) se agregó manualmente hasta que se homogenizó y después se añadió lentamente a la macromezcla. El aceite de pescado se adicionó después de haber añadido a la macromezcla los microingredientes, finalmente se adicionaron 300 ml de agua (por kg) hasta obtener una pasta homogénea. La pasta se

pasó por un molino de carne (TOR-REY^{MR}, mod. 22) con un dado de 2 mm de diámetro de orificio. Se obtuvieron pellets de 2 mm de diámetro, los cuales fueron posteriormente secados en una estufa eléctrica modelo Shel Lab^{MR} Mod. 1330 FX durante 8 min a 100 °C, como lo recomienda Dominy 1994 (comunicación personal); finalmente se conservaron en recipientes herméticos en refrigeración.

Tabla No. 3 .- FORMULA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

INGREDIENTE	%
Harina de Pescado	13.00
Pasta de Soya	13.00
Harina de Camarón	4.00
Harina de trigo	52.8329
Gluten de trigo	8.00
Mezcla Vitamínica*	0.2250
Metionina	0.1078
Aceite de Pescado (fresco, medianamente o altamente oxidado)	7.5176
Fosfato Monosódico	1.2688
Vitamina C (Rovimix Stay C)	0.0251
Vitamina E	0.0100 (suplementación o no)
Antioxidante (ETQ)	0.0130 (suplementación o no)

*Vitamínica aportadas/kg de dieta: Vit. A (15 000 UI/kg); Vit. D₃ (7 500 UI/kg); Vit. K₃ (20 mg/kg); Tiamina (150 mg/kg); Riboflavina (100 mg/kg); Cianocobalamina B₁₂ (0.1 mg/kg); Ac. Fólico (20 mg/kg); Piridoxina (50 mg/kg); Ac. Pantoténico (100 mg/kg); Niacina (300 mg/kg); Colina (400 mg/kg); Biotina (1 mg/kg), Inositol (300 mg/kg) (Akiyama et al.; (1989).

V.3.4. ANALISIS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Una vez elaboradas las ocho dietas, se determinó en cada una de ellas la composición química proximal; el análisis fué realizado en el laboratorio de nutrición del Programa de

Maricultura de la F.C.B. de la U.A.N.L. mediante los métodos propuestos por la A.O.A.C. (1990).

Las dietas fueron conservadas en envases de plástico herméticos durante el experimento y refrigeradas en un congelador Frigidaire TORREY^{MR} a -17 °C. Al final del experimento se enviaron muestras de las dietas experimentales al Dr. W. Shemer del laboratorio de NOVUS International Inc. en St. Charles Missouri, U.S.A., para la determinación del contenido de ETQ residual, valor peróxido, el perfil de ácidos grasos y el contenido de vitamina E en cada una de las dietas experimentales.

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 o/oo durante una hora.

V.4. DESCRIPCION DE LA SALA DE BIOENSAYOS.

El bioensayo se llevó a cabo, en la sala de bioensayos del programa Maricultura F.C.B. de la U.A.N.L., la cual consta de 48 tanques de fibra de vidrio de 60 x 30 x 35 cm, con un volumen aproximado de 60 litros de capacidad. Cada acuario posee, un doble fondo cubierto con tela de gasa. Los tanques están equipados con un sistema de "air-waterlift" para promover la circulación interna, a través del doble fondo. Cada acuario tiene un recambio de agua de 800% diario, a partir de un sistema de 8 m³ de agua marina sintética. La sala también cuenta con tres tanques de pre-engorda 500 l de capacidad y con cinco tanques de 1 100 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 dos filtros de cartucho, dos filtros de carbón activado y dos 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 3, fig. 18, 19 y 20).

V.5. CARACTERISTICAS DE LOS ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Para realizar el bioensayo, se utilizaron juveniles de *Penaeus vannamei*, de 250 mg de peso promedio, que se obtuvieron del laboratorio de producción de postlarvas GENESIS S.A. de C.V. ubicado en Puerto Peñasco Sonora, las cuales fueron enviadas por vía aérea a Monterrey en bolsas de plástico, con agua del tanque de colecta, en hieleras de poliestireno. Las bolsas de plástico con las postlarvas se colocaron en un tanque de preengorda de 500 l de capacidad conteniendo agua marina sintética a 35 ‰ de salinidad y 26 °C de temperatura donde las postlarvas se fueron aclimatando a la salinidad y temperatura durante 3 h aproximadamente dejando salir a los camarones de las bolsas de plástico cuando ya se habían adaptado a las condiciones del estanque.

V.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.

El bioensayo nutricional constó de dos diseños factoriales:

A).- 3 X 2 dietas conteniendo aceite fresco, medianamente oxidado o altamente oxidado,

suplementadas con dos niveles de vitamina E (0 y 100 mg/kg de dieta) (factores: grado de oxidación del aceite de pescado y presencia o ausencia de vitamina E). Los grupos de camarones analizados bajo este diseño factorial fueron: 1, 2, 3, 4, 6, y 8 (sombreado).

B).- 2 X 2 dietas conteniendo aceite altamente oxidado, suplementadas con dos niveles de vitamina E (0 y 100 mg/kg de dieta) y dos niveles de suplementación de antioxidante ETQ (0 y 130 mg/kg de dieta) (factores: presencia o ausencia de vitamina E y presencia o ausencia de ETQ). Los grupos de camarones analizados bajo este diseño factorial fueron: 5, 6, 7 y 8. Los resultados de estos dos cuadros se analizaron por separado (ver V.9.).

		ACEITE FRESCO	ACEITE OXIDADO	
VIT. E	ETQ		MEDIANAM.	ALTAMENTE
SIN	SIN			5
	130 mg/kg	1	3	6
100 mg/kg	SIN			7
	130 mg/kg	2	4	8

Fig. No. 1.- Diagrama del Diseño experimental

V.6.1. JUSTIFICACION DEL DISEÑO EXPERIMENTAL:

Para la realización de los objetivos particulares 1 y 2: se realizaron análisis sobre los aceites y las dietas.

Para el cumplimiento de los objetivos particulares 3 y 4: se compararon los resultados del los organismos alimentados con las dietas 1, 2, 3, 4, 6, y 8.

Para el cumplimiento del objetivo particular 5: se compararon los resultados de los organismos alimentados con las dietas 5, 6, 7 y 8.

V.7. CONDICIONES EXPERIMENTALES

Durante una semana se dejaron los camarones en el estanque de pre-engorda para que se aclimataran a las condiciones de la sala, alimentandolos con una dieta de base, después de esta semana se les alimentó con otra dieta base que contenía todos los ingredientes mencionados anteriormente pero que había sido formulado con harina de pescado y harina de camaron completas (no desgrasado) y mezcla vitamínica libre de vitamina E (con el propósito de que agotaran sus reservas de vitamina E del cuerpo).

Después de alimentarlos durante una semana con la dieta anterior se repartieron los organismos en 40 acuarios colocando 10 camarones en cada uno (densidad equivalente a 62.5 organismos por metro cuadrado) tratando que las medias del peso de los camarones de cada acuario fueran homogéneas; posteriormente los pesos fueron analizados estadísticamente para observar si no existía diferencias en las medias de cada uno de los

acuarios antes de iniciar el bioensayo. Los tratamientos se distribuyeron de manera aleatoria en los acuarios y cada tratamiento fué corrido con cinco replicados. El experimento tuvo una duración de 56 días, alimentando a los camarones al 8 % de su biomasa 1 vez al día con las dietas experimentales.

Durante los 56 días del experimento se monitorearon la temperatura del agua con un termómetro Weksler^{MR} con un rango de 20 a 50 °C, la salinidad se midió con un salinómetro YSI^{MR} modelo 33 con un rango de 0 a 100 ‰ y cada quince días se monitoreron la concentración de nitritos, nitratos, amonio y pH con kits rápidos de Aquarium System^{MR}.

También diariamente se tomaron registros de: restos de alimento (visual aparente), mudas, y mortalidad; los datos se anotaron en hojas de registro para llevar un control diario, y se sifonearon los fondos del acuario para eliminar las heces y residuos de alimento que afectan la calidad del agua del acuario. El fotoperíodo se mantuvo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

V.8. PARAMETROS DE LA EVALUACION BIOLOGICA.

A los 14, 28,42 y 56 días se pesaron los camarones en una balanza OHAUS^{MR} (de 0.000 g de sensibilidad) y se calcularon para cada acuario los valores de tasa de crecimiento, tasa de conversión alimenticia y tasa de sobrevivencia, mediante las siguientes fórmulas.

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

$$\text{Tasa de conversión alimenticia} = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{peso ganado (g)}}$$

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

Para el consumo de alimento se tomaron en cuenta los valores promedios estimados para los individuos vivos en el acuario al momento de la biometría. El consumo individual se calculó en base al consumo de alimento estimado cada día para el acuario y número de camarones vivos ese día, la formula utilizada fué la siguiente:

$$\text{Consumo} = \sum \frac{\text{ración en el acuario} \times \% \text{ consumido del día}}{\text{número de camarones en el acuario ese día}}$$

V.9. ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar el efecto del grado de oxidación del aceite de pescado y de la suplementación con vitamina E y las interacciones de los dos factores, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) bifactoriales (Two-ways) entre los tratamientos 1, 2, 3, 4, 6, y 8. Así mismo se realizó ANOVA's de vía simple (one-way) con pruebas de comparación múltiple de medias de Duncan, a un nivel de significancia de 0.05 para determinar si existían o no diferencias significativas entre los tratamientos de los parámetros biológicos evaluados.

Para determinar el efecto de la suplementación con vitamina E y/o del antioxidante sintético ETQ y las interacciones de ambos, se realizó ANOVA's bifactoriales entre los tratamientos 5, 6, 7 y 8. También se realizó ANOVA's de vía simple con pruebas de comparación múltiple de medias de Duncan, a un nivel de significancia de 0.05 para determinar si existían o no diferencias significativas entre estos tratamientos, dichos análisis se realizaron con el software SPSS/PC⁺™ versión 3.0 (1988) (Ver ejemplos de archivo de datos y análisis en anexo IV y V).

V.10. RELACION HEPATOSOMATICA

Al final del experimento (56 días) para conocer una posible alteración causada al hepatopáncreas por la presencia de aceites oxidados en las dietas se estimó la relación hepatosomática; según el procedimiento siguiente: se disectó el hepatopáncreas de cada camarón (183 organismos), el cual fué pesado (Peso 1) en una balanza AND^{MR} modelo ER182A (0.00001 g de sensibilidad). Posteriormente se colocó el resto del cuerpo y se anotó este último peso (Peso 2); y con la fórmula siguiente se determinó la relación hepatosomática:

$$\text{Relación Hepatosomática} = \frac{\text{Peso del hepatopáncreas (P1)}}{\text{Peso del Cuerpo (P2)}} \times 100$$

Se realizó sobre los resultados de la relación hepatosomática de cada tratamiento ANOVA's (two-way y One-way) para determinar si existían o no efectos por los factores: grado de oxidación del aceite de pescado, suplementación o no de vitamina E y/o de antioxidante sintético ETQ y para determinar si existían o no diferencias significativas entre los tratamientos para este parámetro evaluado.

V.11. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE VITAMINA E EN LOS CAMARONES

De una muestra del lote de camarones al inicio de este bioensayo se tomó para la determinación de contenido de vitamina E en el cuerpo. Y de los hepatopáncreas extraídos de cada camarón, para la determinación de la relación hepatosomática al final del experimento, se colocaron en microtubos de SIGMA^{MR}, previamente etiquetados (anotando el tratamiento que había recibido el organismo y el número de acuario correspondientes). Los microtubos fueron posteriormente colocados en un contenedor con nitrógeno líquido

(-170 °C) para su preservación. Los cuerpos de los camarones se colocaron en bolsas de aluminio previamente etiquetadas y posteriormente en nitrógeno líquido para su preservación. Las muestras de hepatopáncreas y cuerpo de los camarones fueron enviadas al Dr. William Schuep de VFEA/ROCHE Basel (F. HOFFMANN LA ROCHE LTD.) Switzerland/Suiza. A la fecha de la redacción de este escrito no se tenían los resultados de estos análisis.

V.12. EVALUACION HISTOLOGICA

Para conocer posibles lesiones a nivel histológico en el camarón, causados por consumo de aceites rancios u oxidados en las dietas experimentales, se corrió un bioensayo simultáneo al bioensayo de crecimiento, para el muestreo de organismos alimentados con las dietas D2 (FRES+ETQ), D5 (AAO) y D8 (AAO+VIT E+ETQ). Se utilizaron camarones de 350 mg de peso promedio inicial; se tomó además una muestra de los organismos al inicio del bioensayo, para el tratamiento con la dieta D5 se contó con 4 replicados y para las dietas D2 y D8 se contó con 2 replicados, el plan de muestreo fué el siguiente:

- D5: Se muestreó a los 14, 28, 42 y 56 días (observación de posibles lesiones con la dieta más carente).
- D8: A los 28 y 56 días (comparación con el grupo de camarones alimentados con la D5 (para evaluar el efecto protector de la vitamina E y ETQ)).
- D2: A los 28 y 56 días (control).

Los organismos se fijaron con la técnica propuesta por Bell T. A. y Lightner D. V., (1988). Debido a que se encontró alta mortalidad en los camarones alimentados con la D5 ($\geq 50\%$ a los 28 y 29 días) en los acuarios destinados a muestrearse a los 42 y 56 días, los organismos fueron sacrificados, por lo que no hubo muestras a los 42 y 56 días de esta dieta. A los 56 días sólo se obtuvieron muestras de los camarones alimentados con las dietas D2 y D8.

Algunos acuarios correspondientes al bioensayo de crecimiento que presentaron mortalidad $\geq 60\%$ fueron también fijados para análisis histológico: 1) caso de 2 acuarios con camarones alimentados con la D1 que mostraron alta mortalidad después de 30 y 50 días del experimento (mortalidad no esperada) y 2) caso de 2 acuarios con camarones alimentados con la D5 que presentaron mortalidad elevada a los 34 y 37 días del experimento. Los resultados de esta evaluación será motivo de otro estudio y no se incluirá en los resultados.

VI. RESULTADOS

VI.1. OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO

VI.1.1. CAMBIOS DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO.

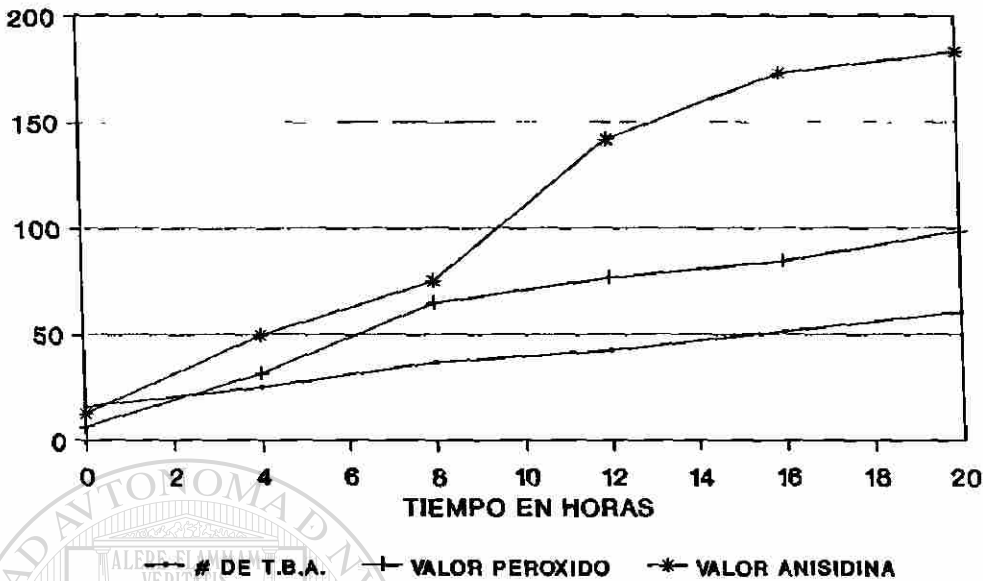
Después de someter el aceite de pescado a la oxidación controlada y acelerada con el método del oxígeno activo se observó que los valores de los tres indicadores utilizados para monitorear el grado de oxidación: valor peróxido (V.P.), No. ácido tiobarbitúrico (# de T.B.A.) y valor anisidina (V.A.) se incrementaron (tabla No. 4). El valor peróxido para el aceite fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado fué 6, 50 y 100 meq/kg respectivamente.

Las cinéticas de oxidación realizadas en el aceite de pescado monitoreando con los tres indicadores del grado de oxidación muestran un patrón de desarrollo de la oxidación muy similar (Fig. 2), es decir que a medida que progresaba la exposición del aceite de pescado a una temperatura de 97.8 °C y con inyección de aire, se acumulaban los productos de la oxidación detectados por cada una de las ellas.

Tabla No. 4.- DETERMINACIONES DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO EXPERIMENTAL (FCB/UANL).

Indicador de oxidación	Grado de Oxidación		
	Fresco	Medianamente oxidado	Altamente oxidado
V.P.(meq/kg)	6.08	50.52	100.31
TBA (mgMA/kg)	15.78	27.54	53.66
V.A.*	26.32	52.57	183.47

* Valor Anisidina es definida como 100 veces la densidad óptica medida en celdas de 1 cm de una solución resultado de una reacción de 1 g de muestra en 100 ml de una mezcla de reactivos y solventes.



V.P. (meq/kg de aceite), T.B.A. (mg M.A./kg de aceite) y V.A.: 100 densidad óptica medida en celdas de 1 cm de una solución resultado de una reacción de 1 g de muestra en 100 ml de una mezcla de reactivos y solventes.

Figura No. 2. Cinéticas de oxidación del Aceite de Menhaden con Inyección de Aire a 97.8 °C

En la tabla No. 5 se muestran los resultados reportados por el laboratorio de Ralston-Purina para las determinaciones realizadas en muestras de aceite fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado. Aunque los valores reportados para el aceite no son similares con los determinados en nuestro laboratorio, se observa un incremento en los valores para las muestras de aceites medianamente oxidado y altamente oxidado con respecto al aceite fresco, sin embargo el resultado reportado de valor peróxido para el aceite fresco es demasiado alto.

Tabla No. 5.- DETERMINACIONES DEL GRADO DE OXIDACION EN LAS MUESTRAS DE ACEITE EXPERIMENTAL POR EL LABORATORIO DE RALSTON-PURINA.

Indicador de oxidación	Grado de oxidación		
	Fresco	Medianamente oxidado	Altamente oxidado
V.P. (meq/kg)	17.7	29.8	53.6
T.B.A. (mgMA/kg)	8.96	21.0	38.0
Acidos grasos libres (%)	0.160	0.220	0.840

VI.1.2. CAMBIOS EN LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DEL ACEITE DE PESCADO.

El perfil de ácidos grasos realizado en el aceite de pescado fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado se muestra en la tabla No. 6.

Se puede apreciar que después de someter al aceite de pescado a la oxidación creciente, los ácidos grasos que más se degradaron fueron los de la familia omega 3 (ω -3); ésta degradación fué más evidente en el aceite altamente oxidado; la reducción de los ácidos grasos poliinsaturados ω -3 corresponde a una disminución mayor del 10 %.

De los ácidos grasos esenciales tenemos que para el aceite altamente oxidado, el ácido linolénico ($18:3\omega$ -3) disminuyó alrededor de un 10 %, el ácido eicosapentaenoico ($20:5\omega$ -3) un 16 % y el ácido docosahexaenoico ($22:6\omega$ -3) en un 19 %. También se aprecia una reducción del total de polienos especialmente en el aceite altamente oxidado con respecto al aceite fresco (391.1 en el aceite fresco y 331.2 en el aceite altamente oxidado) con una reducción del orden de 15 %.

El total de ácidos grasos ω -3 para el aceite fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado fueron 309.9, 305.5 y 259.1 respectivamente con una pérdida de un 16.4 % entre el aceite fresco y el altamente oxidado. El total de ácidos grasos ω -6 descendió sólo alrededor de un 9 % en el aceite de pescado altamente oxidado con respecto al aceite fresco y la relación ω -3/ ω -6 para el aceite fresco, medianamente oxidado y altamente oxidado fué 11.9, 11.7 y 11.1 respectivamente.

Encontramos además que el total de ácidos grasos saturados aumento ligeramente y el total de monoenos disminuyó conforme se aumentó el grado de oxidación del aceite de pescado.

Tabla No. 6.-

COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DE LOS ACEITES DE PESCADO SOMETIDOS A OXIDACION CRECIENTE (mg/g).

	FRES	MODER.	ALTA		FRES	MODER.	ALTA
	OX	OX	OX		OX	OX	OX
ACIDO GRASO	mg/g	mg/g	mg/g	ACIDO GRASO	mg/g	mg/g	mg/g
12:0	<0.1	<0.1	<0.1	16:3n-4	13.8	13.8	11.2
13:0	0.2	0.3	0.3	16:3n-3	<0.1	<0.1	<0.1
14:0	66.6	66.7	67.3	16:4n-3	<0.1	<0.1	<0.1
15:0	5.1	5.1	5.2	16:4n-1	13.2	13.2	11.4
16:0	137.4	137.1	143.9	18:3n-6	<0.1	<0.1	<0.1
17:0+16:3	5.5	5.5	5.4	18:3n-4	3.4	3.3	3.1
18:0	25.5	25.4	26.5	18:3n-3	10.7	10.6	9.6
19:0	<0.1	<0.1	<0.1	18:4n-3	26.6	26.4	22.9
20:0	3.3	2.1	2.5	18:4n-1	3.8	3.8	3.4
22:0	<0.1	0.5	<0.1	20:3n-6	2.0	2.0	1.7
24:0	<0.1	<0.1	<0.1	20:4n-6	6.8	6.8	5.7
Σ Saturates	243.4	242.7	251.2	20:3n-3	1.6	1.8	1.7
14:1n-7	<0.1	<0.1	<0.1	20:4n-3	14.8	13.6	12.0
14:1n-5	0.7	0.7	0.7	20:5n-3	126.8	124.7	105.7
16:1n11?	3.1	3.1	3.0	21:5n-3	6.7	6.5	5.8
16:1n-9	1.6	1.7	1.6	22:4n-6	1.3	1.4	1.2
16:1n-7	88.1	89.0	86.6	22:5n-6	3.8	3.7	3.3
16:1n-5	2.4	2.4	2.4	22:5n-3	24.1	23.7	20.3
17:1	<0.1	<0.1	<0.1	22:6n-3	99.4	98.0	80.9
18:1n-11	<0.1	<0.1	<0.1	TMTD	<0.1	<0.1	<0.1
18:1n-9	68.6	69.2	68.3	Pristanate	<0.1	<0.1	<0.1
18:1n-7	26.5	26.7	26.1	14:0, ISO	0.5	0.5	0.5
18:1n-5/18:2n-9	2.0	2.0	1.9	15:0, ISO	2.4	2.4	2.4
19:1	<0.1	<0.1	<0.1	15:0, AISO	1.0	0.9	0.9
20:1n-11+13	0.5	0.5	0.9	16:0, ISO	1.1	1.1	1.1
20:1n-9	8.6	8.7	8.6	17:0, ISO	2.3	2.3	2.3
20:1n-7	2.3	2.8	2.5	17:0, AISO	1.1	1.1	1.1
20:1n-5	1.8	2.5	2.1	Phytanate+17:1n-8	2.6	2.7	2.5
22:1n-11+13	<0.1	<0.1	<0.1	7MH	0.6	0.7	0.6
22:1n-9	1.5	1.4	1.4	7M7H	<0.1	<0.1	<0.1
22:1n-7	1.3	1.3	<0.1				
22:1n-5	<0.1	<0.1	<0.1				
24:1n-9	2.5	2.5	2.4				
Σ Monoenes	211.2	214.3	208.6				
16:2n-7	2.2	2.3	2.2				
16:2n-6	<0.1	0.2	<0.1				
16:2n-4	12.9	12.9	12.1				
18:2n-9	<0.1	<0.1	<0.1				
18:2n-7	<0.1	<0.1	<0.1				
18:2n-6	10.6	10.6	10.1				
18:2n-4+18:3n-6	5.9	5.9	5.9	Total Polyenes	391.1	386.9	331.2
20:2n-9	<0.1	<0.1	<0.1	Total n-3	309.9	305.5	259.1
20:2n-6	1.5	1.5	1.4	Total n-6	25.9	26.0	23.4
Total Dienos	33.2	33.5	33.5	n3/n-6	11.9	11.7	11.1

FAME were tentatively identified by comparison of their RRT with those of primary and secondary standards.

Análisis realizado por Mrs. Gloria Seaborn (U.S. Dept. of Commerce, National Marine Fisheries Service).

VI.2. ANALISIS PROXIMAL DE LOS OTROS INGREDIENTES.

Los resultados del análisis bromatológico de los ingredientes experimentales se muestran en la tabla No. 7. Después de realizar la extracción de lípidos en los ingredientes harina de pescado y harina de camarón, los valores de el porcentaje de grasa cruda disminuyeron considerablemente, encontrando valores de 0.41 % y 0.28 % en el porcentaje de grasa respectivamente. Así mismo se observó que el porcentaje de proteína cruda se había incrementado en ambos ingredientes.

Tabla No. 7.- ANALISIS PROXIMAL DE INGREDIENTES (% en base húmeda).

Ingrediente	% Proteína	% Grasa	% Fibra	% Ceniza	% ELN*	% Hum.
H. Pescado	71.93	9.3	0.58	14.60	1.56	1.99
H. Pescado ¹	74.58	0.41	0.22	14.73	1.33	8.7
Pasta Soya	46.12	0.89	2.23	6.86	39.52	4.37
H. Camarón	44.13	2.19	8.64	33.58	7.06	4.39
H. Camarón ²	45.21	0.28	13.44	32.72	2.32	5.79
Glu. Trigo	75.36	0.91	0.12	1.56	11.42	5.46
H. Trigo	12.78	1.32	0.506	1.38	75.59	8.42

^{1,2} Ingredientes después de desgrasar

* Extracto libre de nitrógeno

VI.3. ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Los resultados de los análisis bromatológicos de las dietas experimentales se resumen en la tabla No. 8. Las dietas experimentales elaboradas para este experimento presentaron bastante homogeneidad en los resultados del análisis químico proximal en base seca. Cabe mencionar que aunque en la formulación teórica se restringió a 30 % el aporte de proteína por los ingredientes, en las dietas se encontraron valores mayores a lo esperado, sin embargo este aumento fué el mismo en todas las dietas y el porcentaje encontrado fué muy similar en todas ellas por lo que las dietas se pueden considerar isoproteicas. Por otra parte el porcentaje de grasa cruda fué bastante similar en todas las dietas encontrando un promedio de 7.5 % de grasa en todas ellas.

En cuanto a la estabilidad de las dietas en el agua, se observó que todas eran bastante estables, ya que hubo poca pérdida de materia seca (P.M.S.) alrededor de 4.7 % después de una hora de inmersión en el agua marina a 35 °/oo.

Tabla No. 8.- ANALISIS PROXIMAL DE DIETAS EXPERIMENTALES (% en base húmeda).

DIETAS	Proteína	Grasa	Fibra	%		Hum.	P.M.S. ²
				Ceniza	ELN ¹		
1 FRES+ETQ	33.20	7.51	1.47	5.68	52.14	6.04	5.47
2 FRES+ ETQ+VIT E	32.48	7.86	1.05	5.13	53.48	6.42	5.36
3 AMO+ETQ	31.70	7.87	1.03	5.48	53.92	4.64	3.71
4 AMO+ ETQ+ VIT E	32.65	7.76	1.50	5.89	52.20	5.74	3.87
5 AAO	32.65	7.07	1.22	5.85	53.21	5.26	5.62
6 AAO+ETQ	33.33	7.83	1.35	6.00	51.49	5.73	5.05
7 AAO+VIT E	33.51	7.61	1.34	5.87	51.67	4.74	4.18
8 AAO+ETQ+VIT E	34.17	7.80	1.33	5.94	49.24	5.27	4.44

1 Extracto libre de nitrógeno

2 Pérdida de materia seca después de 1 h de inmersión en agua marina.

VI.4. ANALISIS DEL GRADO DE OXIDACION DE LAS DIETAS

Después de extraer los lípidos y/o grasa de las dietas experimentales y analizar el valor peróxido, se encontraron indicios mínimos de la coloración azul (por el almidón utilizado como indicador) característica, necesaria para titular con tiosulfato de sodio el yodo liberado del yoduro de potasio por el oxígeno presente en la solución valorada, es decir no se encontraron indicios mínimos de rancidez con esta técnica.

Por otra parte, el número de T.B.A. determinado en la grasa extraída de las dietas experimentales dió valores mucho más bajos a lo esperado, obteniendo valores del orden del 10 mg de malonaldehído/kg que corresponderían a una grasa no oxidada.

El valor anisidina no fué determinado en ninguna de las dietas debido a que los lípidos extraídos contenían muchos pigmentos que interferían con las lecturas realizadas al espectrofotómetro con luz ultravioleta (352 nm).

VI.5. EVALUACION BIOLOGICA

VI.5.1. EFECTO DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO Y DE LA SUPLEMENTACION O NO CON VITAMINA E

La evaluación biológica de los efectos del grado de oxidación del aceite de pescado y de la suplementación o no de vitamina E, fué realizada con el grupo de camarones alimentados con las dietas 1, 2, 3, 4, 6 y 8. Dicha evaluación se da a los 14, 28, 42 y 56 días,

así mismo se presentan los análisis de varianza (ANOVA) bifactoriales (Two-way) y de via simple (one-way) y la gráfica correspondiente para cada parámetro evaluado.

VIT E	ETQ	ACEITE FRESCO	ACEITE OXIDADO	
			MEDIANA.	ALTAMENTE
SIN	SIN			
	130 ppm	1	3	6
100ppm	SIN			
	130 ppm	2	4	8

VI.5.1.1. SOBREVIVENCIA

Los resultados de sobrevivencia durante todo el experimento se resumen en la tabla 9. Durante los primeros 42 días del experimento los análisis bifactoriales por ANOVA no detectaron efectos significativos por ninguno de los factores estudiados.

A los 42 días, la mayoría de los grupos presentaban sobrevivencias de 84 % o más, a excepción del grupo alimentado con la dieta D1 (75 %); este grupo había perdido 2 acuarios (Fig 3); debido a que en ellos se había alcanzado una mortalidad superior al 40% y los organismos restantes fueron sacrificados para evitar que actuara sobre el tratamiento la variable densidad (menor número de organismos en el mismo espacio); la mortalidad en este grupo continuó hasta los 47 días y fué cuando 4 de sus 5 replicados presentaron más del 40% de mortalidad (Fig. 4).

También después de la evaluación a los 42 días, los camarones alimentados con las dietas no suplementadas con vitamina E presentaron una mortalidad elevada, alcanzando casi todos sus replicados mortalidades de 40 % a los 56 días (Fig. 3); para los análisis estadísticos, se tomaron en cuenta los acuarios con sobrevivencias iguales o superiores a 60 %, por lo que los resultados de las dietas D3 (3 acuarios con 60 % de sobrevivencia) y D6 (2 acuarios con sobrevivencia de 60 % y 1 con 70 %) aparecen en la tabla 9 y en la figura 3.

A los 56 días se detectaron efectos altamente significativos ($P=.004$) generados por la suplementación con vitamina E (tabla No. 9); en este momento las tasas de sobrevivencia más altas fueron para aquellos camarones alimentados con las dietas suplementadas con vitamina E (Fig. 3). El efecto del grado de oxidación se acerca a la significancia ($P= .09$) así como la interacción ($P= .11$).

De manera general no se encontraron efectos significativos por el grado de oxidación del aceite de pescado, pero si por la suplementación con vitamina E después de 42 días de experimento, presentandose las mayores tasas de sobrevivencia para aquellos organismos alimentados con una dieta suplementada con vitamina E.

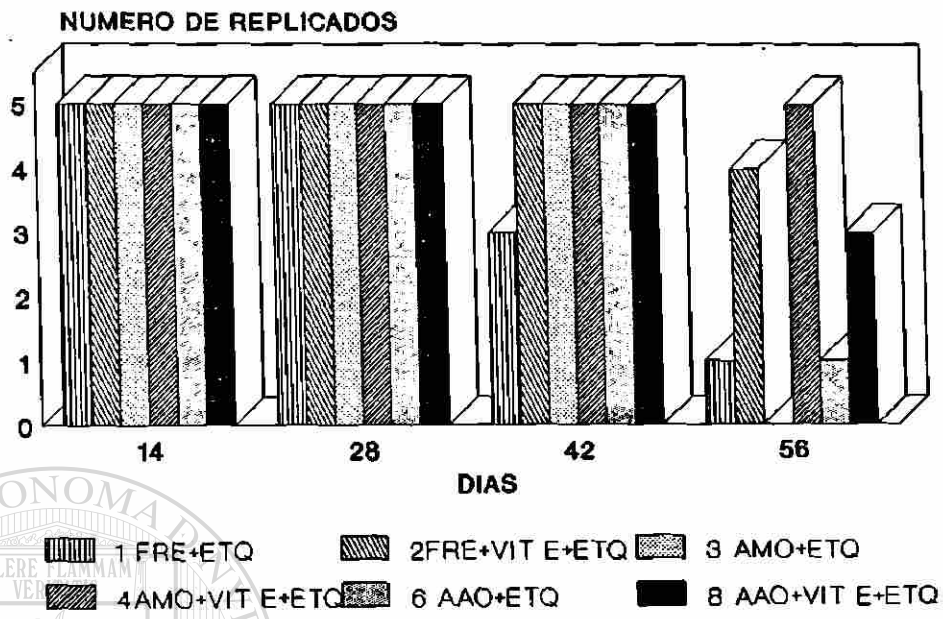


Figura No. 3. Número de Replicados con Mortalidad Menor a 40%

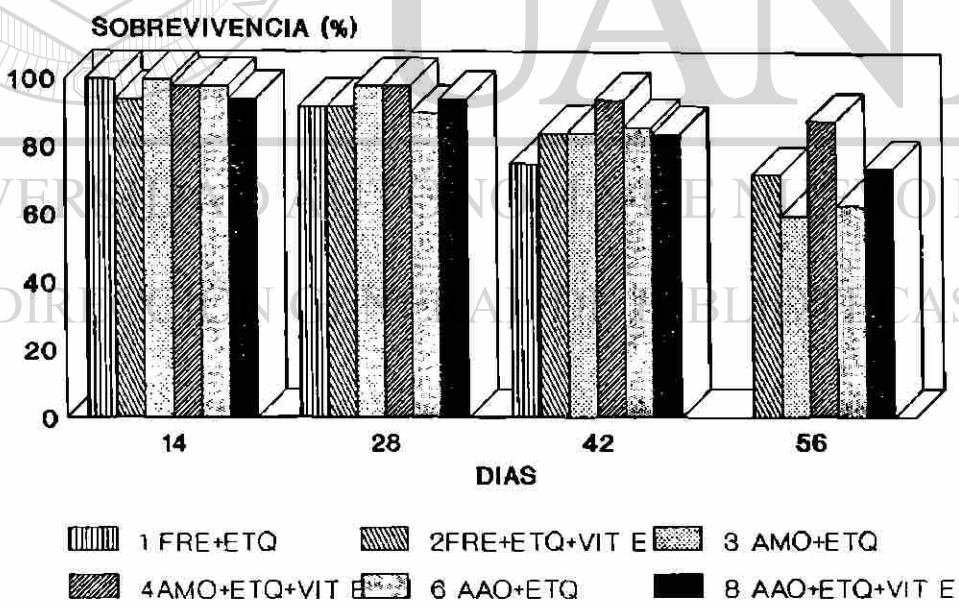


Figura No. 4. Tasa de Supervivencia (3 Grados de Oxidación Con/Sin Vitamina E).

Tabla No. 9.- RESULTADOS PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA (%) DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS / DIAS		0-14	0-28	0-42	0-56
D1 FRES+ETQ	\bar{x}	100.0	92.0	75.0	---
	\pm	0.0	13.03	17.32	---
	n	5	5	3	1
D2 FRES+ETQ+VIT E	\bar{x}	94.0	92.0	84.0	72.0 a
	\pm	8.94	13.03	8.94	10.95
	n	5	5	5	4
D3 AMO+ETQ	\bar{x}	100.0	98.0	84.0	60.0 a
	\pm	0.0	4.47	8.94	0.0
	n	5	5	5	3 (60, 60, 60)
D4 AMO+ETQ+VIT E	\bar{x}	98.0	98.0	94.0	88.0 b
	\pm	4.47	4.47	5.47	8.36
	n	5	5	5	5
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	98.0	90.0	86.0	63.3 a
	\pm	4.47	10.0	8.94	5.77
	n	5	5	5	3 (60, 60, 70)
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	94.0	94.0	84.0	74.0 a
	\pm	8.94	8.94	13.41	13.41
	n	5	5	5	5

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES: GRADO DE OXIDACION y/o SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E. GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 y 8.

Grado de oxidación P		.521	.433	.320	.093
Supl. o no Vit E P		.065	.760	.367	.004
Interacción P		.784	.815	.492	.115
Oneway P		.3979	.7295	.4736	.0149

P=Probabilidad

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

VI.5.1.2. TASA DE CONSUMO

Los resultados promedio de la tasa de consumo durante el experimento se resumen en la tabla 10. A los 28 días de experimentación; los análisis bifactoriales por ANOVA detectaron un claro efecto altamente significativo, por el grado de oxidación del aceite de pescado ($P=.006$). Los camarones alimentados con aceite altamente oxidado D6 y D8 (AAO+ETQ y AAO+ETQ+VIT E) fueron los que presentaron los consumos de alimento más bajo (0.46 y 0.49 g respectivamente) Fig. No. 5 y 6; además se encontró un efecto significativo por la interacción de ambos factores ($P=.05$). Por otra parte los camarones alimentados con la dieta D1 (FRES+ETQ) presentaron el consumo más alto de alimento (0.60 g). La comparación múltiple de medias de Duncan corrobora lo anterior ya que se encontraron diferencias significativas en los camarones alimentados con aceite altamente oxidado (Fig. 5).

Esta misma tendencia se presentó a los 42 días donde se observó que los camarones que menos consumieron fueron los alimentados con la dietas D6 y D8 (AAO+ETQ y AAO+ETQ+VIT E) conteniendo aceites altamente oxidados. La probabilidad para el grado de oxidación fue $P=.063$ que se podría tomar como un efecto significativo si aceptamos un riesgo de 6%. Al igual que a los 28 días, los camarones alimentados con la D1 fueron los que consumieron más alimento (0.80 g).

A los 56 días ya no se encontraron efectos para ninguna de las variables estudiadas y el grupo alimentado con D1 ya no aparece debido a la disminución de replicados por la alta mortalidad mencionada anteriormente (fig. 6).

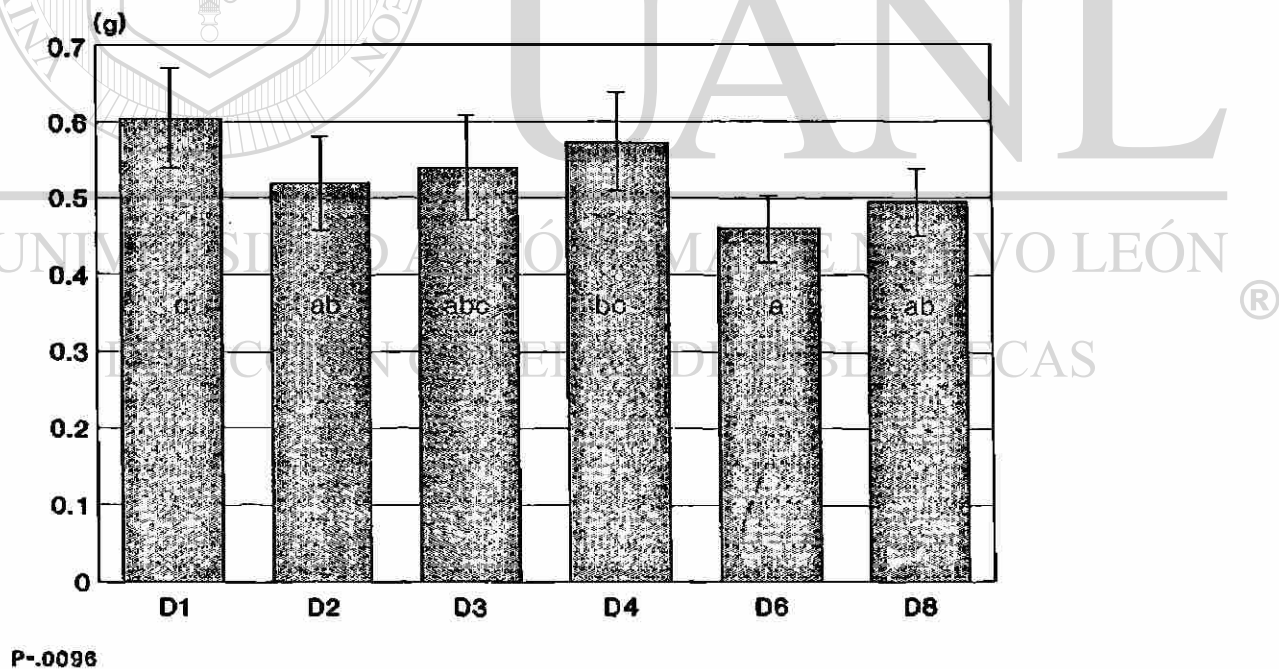


Figura No. 5. Consumo de Alimento a 28 Días.
(3 Grados de oxidación Con/Sin Vitamina E).

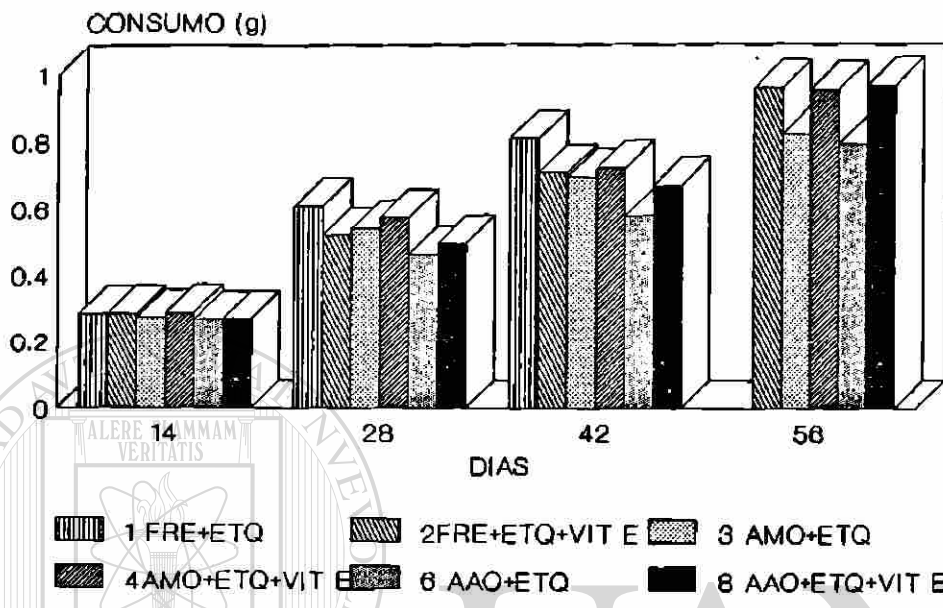


Fig. No. 6. Consumo de Alimento.
(3 Grados de Oxidación Con/Sin Vitamina E).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla No. 10.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA TASA DE CONSUMO DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS /	DÍAS	0-14	0-28	0-42	0-56
D1 FRES+ETQ	\bar{x}	0.28	0.60 c	0.80	---
	\pm	0.01	0.06	0.14	---
D2 FRES+ETQ+VIT E	\bar{x}	0.28	0.51 ab	0.70	0.95
	\pm	0.01	0.06	0.12	0.25
D3 AMO+ETQ	\bar{x}	0.27	0.53 abc	0.69	0.82
	\pm	0.02	0.06	0.09	0.11
D4 AMO+ETQ+VIT E	\bar{x}	0.28	0.57 bc	0.71	0.95
	\pm	0.01	0.06	0.14	0.27
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	0.26	0.46 a	0.57	0.79
	\pm	0.02	0.04	0.04	0.10
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	0.26	0.49 ab	0.66	0.96
	\pm	0.01	0.04	0.11	0.24

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES: GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO y/o SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E. GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 y 8

Grado de oxidación P		.126	.006	.063	1.000
Supl. o no Vit E P		.357	.788	.832	.188
Interacción P		.651	.050	.206	.871
Oneway P		.3144	.0096	.1259	.7021

P=Probabilidad

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes

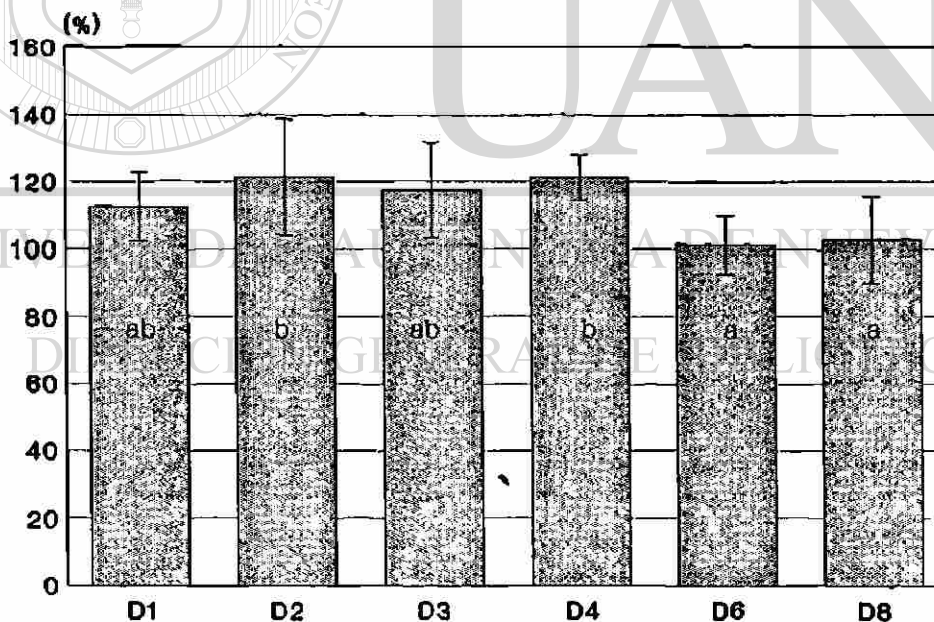
VI.5.1.3. TASA DE CRECIMIENTO

En la tabla No. 11 se muestran los resultados promedio de la tasa de crecimiento. A los 28 días de experimentación, los análisis bifactoriales por ANOVA encontraron efectos altamente significativos por el grado de oxidación ($P=.009$); al contrario la suplementación con vitamina E no generó efectos significativos.

Las más bajas tasas de crecimiento fueron para aquellos grupos de camarones alimentados con las dietas conteniendo aceite altamente oxidado D6 y D8 (AAO+ETQ y AAO+VIT E+ ETQ) (101.39 y 102.81 % respectivamente). La comparación múltiple de medias de Duncan, demuestra que los camarones alimentados con aceite fresco u medianamente oxidado ambos con vitamina E tuvieron una tasa de crecimiento significativamente mayor (15 %) al de aquellos alimentados con aceite altamente oxidado (Fig. 7). En la fig. 8 se aprecia que a los 28 días empieza a notarse una clara separación de los grupos alimentados con aceite fresco ó medianamente oxidados de aquellos alimentados con aceite altamente oxidado.

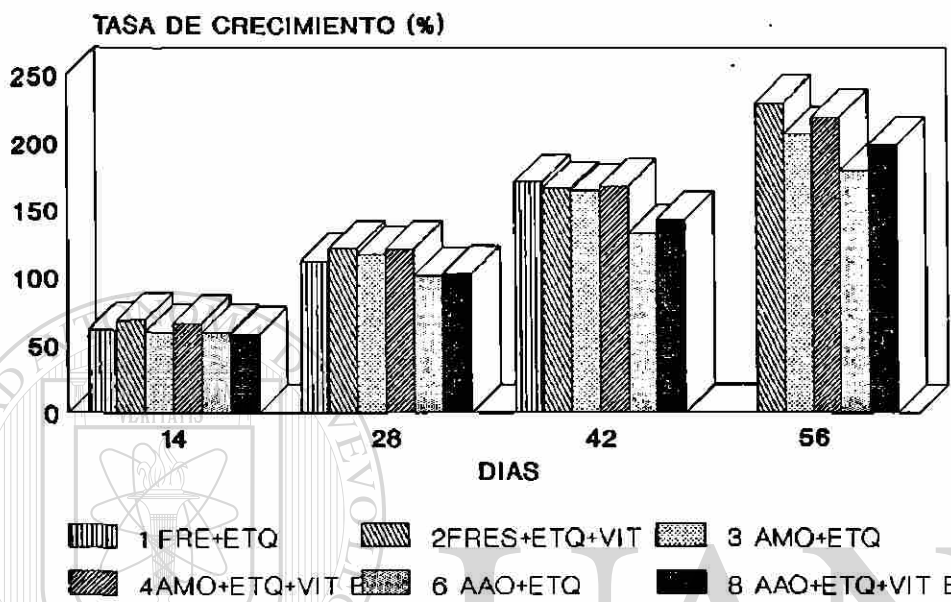
Esta separación se vuelve más evidente a los 42 días (Fig. 8) donde se encuentran efectos significativos por el grado de oxidación del aceite de pescado ($P=.027$). Los camarones alimentados con aceite altamente oxidado presentaron las más bajas tasas de crecimiento.

A los 56 días no se encontraron efectos significativos por ninguno de los factores estudiados; sin embargo durante todo el experimento fueron los camarones alimentados con la dieta D2 (AF+ETQ+VIT E), los que presentaron la mayor tasa de crecimiento.



P=0476

Figura No. 7. Tasa de Crecimiento a 28 Días.
(3 Grados de oxidación Con/Sin Vitamina E).



**Figura No. 8. Tasa de Crecimiento
(3 Grados de Oxidación Con/Sin Vitamina E).**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla No. 11.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA TASA DE CRECIMIENTO DURANTE EL BIOENSAYO

DIETAS	/	DIAS	0-14	0-28	0-42	0-56
D1 FRES+ETQ	\bar{x}		61.61	112.48 ab	171.20	---
	\pm		2.03	10.30	23.74	---
D2 FRES+ETQ+VIT E	\bar{x}		68.39	121.40 b	166.50	230.22
	\pm		6.54	17.29	39.90	66.48
D3 AMO+ETQ	\bar{x}		59.62	117.48 ab	164.62	207.42
	\pm		10.02	14.22	19.00	55.69
D4 AMO+ETQ+VIT E	\bar{x}		66.60	121.12 b	167.98	220.01
	\pm		4.02	6.71	6.76	26.52
D6 AAO+ETQ	\bar{x}		59.68	101.39 a	133.21	180.34
	\pm		2.76	8.62	22.27	28.13
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}		57.78	102.81 a	143.30	199.12
	\pm		11.32	12.85	29.07	44.17

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES: GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO y/o SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E.

GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 y 8.

Grado de oxidación	P	.148	.009	.027	.462
Supl. o no Vit E	P	.139	.306	.740	.524
Interacción	P	.294	.781	.823	.898
Oneway	P	.1483	.0476	.1512	.6483

P=Probabilidad

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

VI.5.1.4. TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

En la tabla No. 12 se resumen los resultados promedio de la tasa de conversión alimenticia (T.C.A.). A los 28 días de experimentación, no se encontraron efectos significativos ni por el grado de oxidación, ni por la suplementación con vitamina E. Sin embargo la interacción de los dos factores fué significativa ($P=.05$) debido a que en este momento del experimento los camarones alimentados con aceite fresco sin suplementación de vitamina E presentaron una tasa de conversión alimenticia (T.C.A.) más alta; esto fué confirmado al eliminar este grupo del análisis bifactorial por ANOVA y encontrar que la probabilidad para la interacción ya no era significativa ($P=.882$ y $.830$) (Tabla No. 12).

Lo mismo ocurrió a los 42 días (fig No. 9), donde el grupo alimentado con D1 (FRE+ETQ), sigue manteniendo la mayor T.C.A., y se presenta una interacción que es significativa ($P=.054$); sin embargo al no incluir a este grupo en el análisis estadístico, la probabilidad para la interacción ya no es significativa.

A los 56 días, no se encuentran efectos para la tasa de conversión alimenticia por ninguno de los factores estudiados y, como se ha mencionado anteriormente, el grupo D1 (FRES+ETQ) ya no aparece a esta fecha en la tabla de resultados, ni en la figura correspondiente.

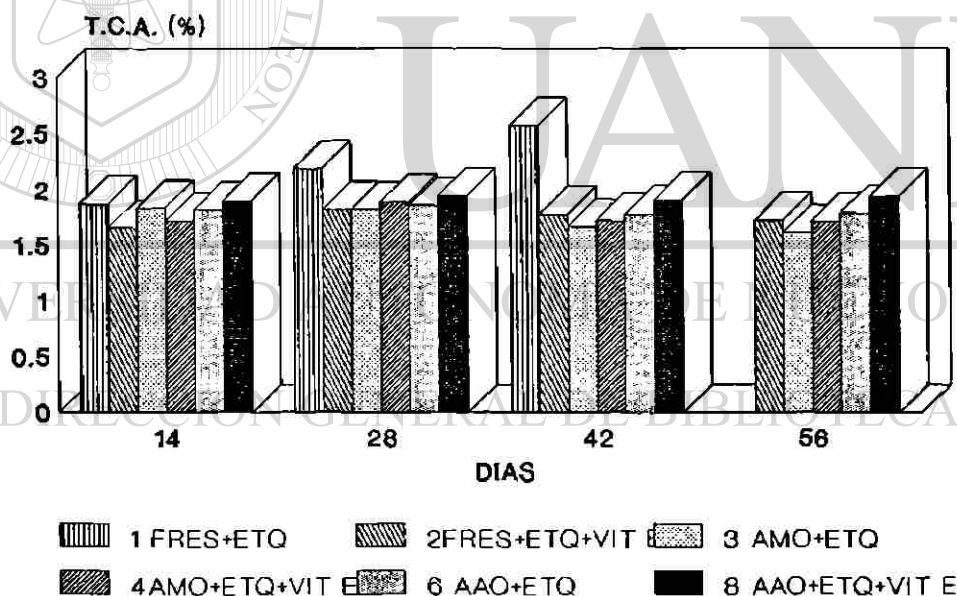


Figura No. 9. Tasa de Conversión Alimenticia.
(3 Grados de Oxidación Con/Sin Vitamina E).

Tabla No. 12.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA T.C.A. DURANTE EL BIOENSAYO

DIETAS / DIAS		0-14	0-28	0-42	0-56
D1 FRES+ETQ	\bar{x}	1.87	2.18	2.56	---
	\pm	0.08	0.12	0.76	---
D2 FRES+ETQ+VIT E	\bar{x}	1.65	1.81	1.77	1.72
	\pm	0.13	0.29	0.53	0.47
D3 AMO+ETQ	\bar{x}	1.83	1.81	1.66	1.61
	\pm	0.22	0.18	0.18	0.32
D4 AMO+ETQ+VIT E	\bar{x}	1.71	1.88	1.72	1.72
	\pm	0.05	0.21	0.30	0.39
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	1.81	1.85	1.78	1.79
	\pm	0.10	0.19	0.16	0.33
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	1.89	1.94	1.90	1.94
	\pm	0.27	0.29	0.36	0.30

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES: GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO y/o SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E.
GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 y 8.

Grado de oxidación	P	.413	.336	.139	.490
Supl. o no Vit E	P	.187	.383	.340	.491
Interacción	P	.147	.050	.054	.938
Oneway	P	.2076	.1184	.0779	.7559

SIN INCLUIR AL GRUPO 1

Grado de oxidación	P	.676	.621
Supl. o no Vit E	P	.474	.552
Interacciones	P	.882	.830

P=Probabilidad

VI.5.15. RELACION HEPATOSOMATICA

Los resultados de la relación hepatosomática se muestran en la tabla No. 13. Los análisis bifactoriales encuentran un efecto significativo para el grado de oxidación del aceite de pescado ($P = .043$) y no significativo para la suplementación con vitamina E. Sin embargo en la fig. No. 10 se puede apreciar que los hepatopáncreas se presentaron más grandes para los camarones que habían sido alimentados con vitamina E (D2, D4 y D8) que para los camarones que no habían consumido vitamina E en sus dietas (D1, D3 y D6). Cabe mencionar que aunque la comparación múltiple de medias de Duncan encuentra diferente al grupo de camarones alimentado con la D8, la probabilidad para el One-way no es significativa ($P = .1513$).

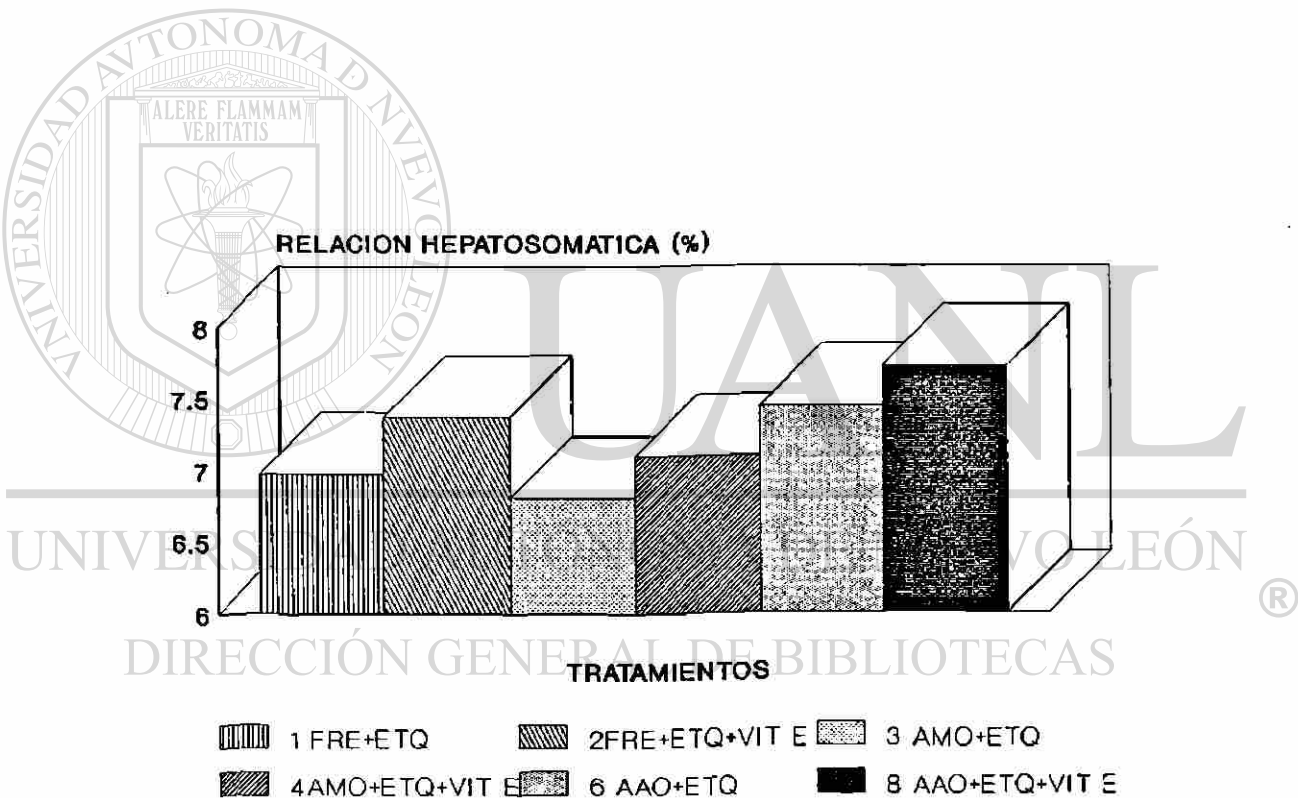


Figura No.10. Relación Hepatosomática.
(3 Grados de Oxidación Con/Sin Vitamina E).

Tabla No. 13.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA RELACION HEPATOSOMATICA

DIETAS	/	No. de muestras	Promedio	D.E.
D1	FRES+ETQ	7	6.98	.9386
D2	FRES+ETQ+VIT E	28	7.38	.9565
D3	AMO+ETQ	22	6.81	1.01
D4	AMO+ETQ+VIT E	38	7.10	1.20
D6	AAO+ETQ	18	7.45	1.37
D8	AAO+ETQ+VIT E	34	7.73	1.81

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES: GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO y/o SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E.
GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 y 8.

Grado de oxidación P .043

Supl. o no Vit E P .198

Interacción P .983

Oneway P .1513

P= Probabilidad

D.E.= Desviación Estandar

VI.5.2. EFECTO DE LA SUPLEMENTACION O NO CON VITAMINA E Y DE LA SUPLEMENTACION O NO CON ANTIOXIDANTE SINTETICO ETOXQUIN (ETQ).

La evaluación biológica de los efectos: suplementación o no de vitamina E y/o ETQ, fué realizada con el grupo de camarones alimentados con las dietas 5, 6, 7 y 8. Dicha evaluación se da a los 14, 28, 42 y 56 días del experimento, así mismo se presentan los análisis de varianza (ANOVA) bifactoriales (Two-way) y de via simple (one-way) realizados y la gráfica correspondiente para cada parámetro evaluado.

VIT E	ETQ	ACEITE FRESCO	ACEITE OXIDADO	
			MEDIANA.	ALTAMENTE
SIN	SIN			5
	130 ppm			6
100ppm	SIN			7
	130 ppm			8

VI.5.2.1. SOBREVIVENCIA

En la tabla No. 14 se muestran los resultados promedio de la sobrevivencia. A los 14 días de experimentación, los camarones alimentados con la dieta que contenía aceite altamente oxidado no suplementada (AAO), se observó una mortalidad temprana.

A los 28 días, este grupo presentó la más baja tasa de sobrevivencia (Tabla 14), y además había perdido uno de los cinco replicados (Fig. 11) ya que en el se había alcanzado una mortalidad del 40 % y este se había eliminado por causas mencionadas anteriormente.

Los análisis bifactoriales por ANOVA encuentran efectos altamente significativos ($P=.012$) por la presencia de ETQ en las dietas. La comparación múltiple de medias de Duncan demuestra que el grupo de camarones alimentados con la dieta D5 no suplementada (AAO) presentó una sobrevivencia significativamente menor (Fig. 12) a los camarones alimentados con la dieta donde se incluía solamente ETQ y/o Vit E, pero estos dos grupos no fueron significativamente diferentes entre si. Sin embargo la presencia de ambos en la dieta hicieron que la tasa de sobrevivencia de los camarones alimentados con la dieta D8 (AAO+ETQ+VIT E) fuera significativamente mayor a los tres grupos mencionados anteriormente.

A los 42 días, los replicados alimentados con dieta D5 (AAO no suplementada), alcanzaron una mortalidad elevada, alcanzando 40 % en tres de cinco replicados (Fig. 11); sin embargo, uno de los replicados se mantuvo a 60 % de sobrevivencia, por lo que se incluyó en el análisis estadístico (tabla 9 y Fig. 13). En esta fecha, el efecto de la suplementación con ETQ se mantiene cerca de la significancia ($P= .09$).

A los 56 días no se encuentran efectos por ninguna de las variables estudiadas y cabe mencionar que la mayor tasa de sobrevivencia la presentaron los camarones alimentados donde la dieta fué suplementada con ambos vitamina E y ETQ (Fig. No.13).

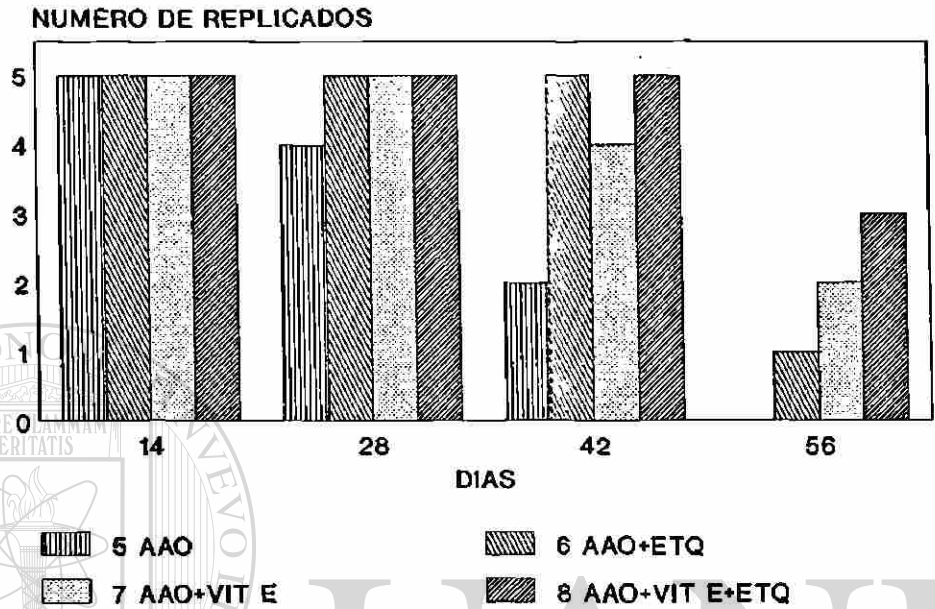
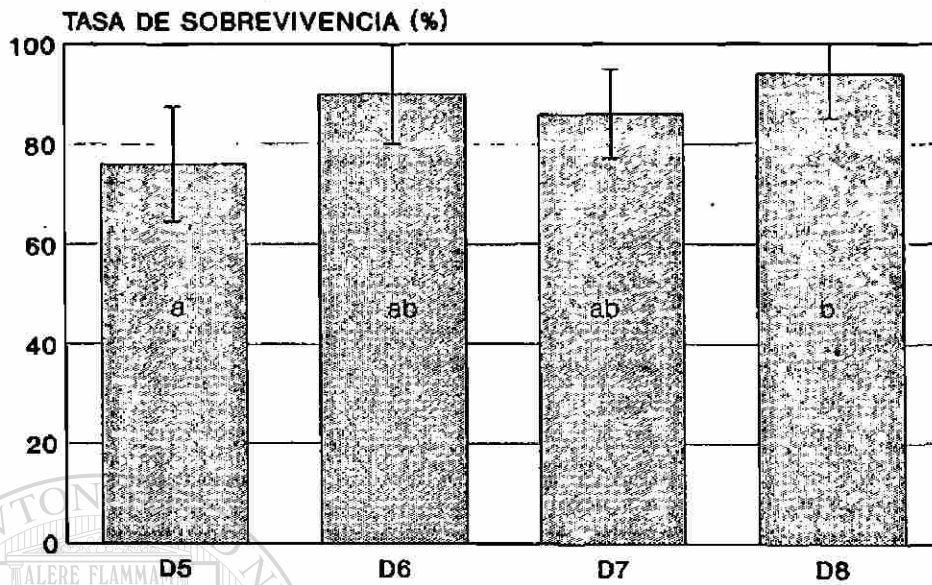


Figura No. 11. Número de Replicados con Mortalidad Menor a 40%.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



P=0489

Figura No. 12. Tasa de Supervivencia a 28 Días.
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ).

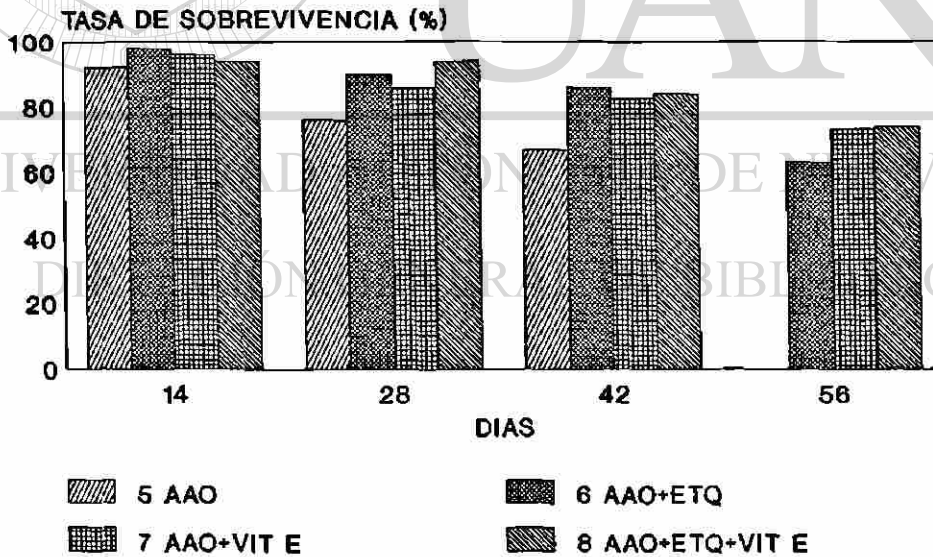


Figura No. 13. Tasa de Supervivencia
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ).

Tabla No. 14.- RESULTADOS PROMEDIO DE SOBREVIVENCIA (%) DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS / DIAS		0-14	0-28	0-42	0-56
D5 AAO	\bar{x}	92.0	76.0 a	66.70	---
	\pm	8.36	11.40	5.77	---
	n	5	4	3(70, 70, 60)	0
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	98.0	90.0 ab	86.0	63.33
	\pm	4.47	10.0	8.94	5.77
	n	5	5	5	3(60, 60, 70)
D7 AAO+VIT E	\bar{x}	96.0	86.0 ab	82.5	73.33
	\pm	5.47	8.94	5.0	15.22
	n	5	5	4	3(60, 70, 90)
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	94.0	94.0 b	84.0	74.0
	\pm	8.94	8.94	13.41	13.41
	n	5	5	5	5

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES:
 SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E y/o
 SUPLEMENTACION O NO DE ETQ.
 GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 y 8.

Supl. o no Vit E	P	1.0	.197	.466	.279
Supl. o no ETQ	P	.460	.012	.090	.964
Interacciones	P	.292	.827	.268	---
Oneway	P	.6324	.0469	.2170	.4983

P=Probabilidad

*Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

VI.5.2.2. TASA DE CONSUMO

Los resultados promedio de la tasa de consumo se presentan en la tabla No. 15. A los 28 y 42 días del experimento, no se encontraron efectos significativos por ninguno de los factores estudiados; sin embargo la probabilidad para la interacción de ambos factores tiende a la significancia.

A los 56 días la probabilidad para la suplementación con ETQ es $P=.067$; las más altas tasas de consumo a esta fecha fueron para aquellos camarones alimentados con la dieta D8 (AAO+Vitamina E+ETQ) (0.96 ± 0.24 g).

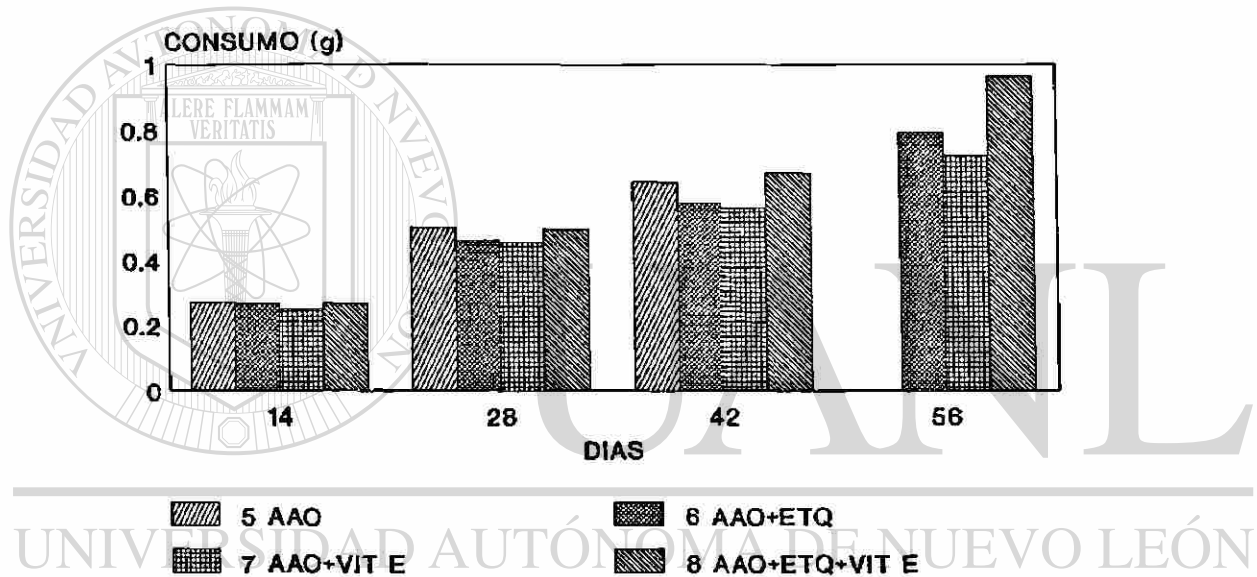


Figura No. 14. Consumo de Alimento
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ)

Tabla No. 15.- RESULTADOS PROMEDIO DE TASA DE CONSUMO DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS / DIAS		0-14	0-28	0-42	0-56
D5 AAO	\bar{x}	0.27	0.50	0.64	---
	\pm	0.01	0.06	0.12	---
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	0.26	0.46	0.58	0.79
	\pm	0.02	0.04	0.04	0.10
D7 AAO+VIT E	\bar{x}	0.24	0.45	0.56	0.72
	\pm	0.02	0.02	0.02	0.06
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	0.26	0.49	0.66	0.96
	\pm	0.01	0.04	0.11	0.24

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES:
 SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E y/o
 SUPLEMENTACION O NO DE ETQ.
 GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 y 8.

Supl. o no Vit E	P	.356	.746	.598	.209
Supl. o no ETQ	P	.734	.980	.503	.067
Interacciones	P	.272	.073	.060	----
Oneway	P	.4415	.3201	.2243	.1547

P=Probabilidad

VI.5.2.3. TASA DE CRECIMIENTO

Los resultados promedio de la tasa de crecimiento se presentan en la Tabla No. 16. Después de 28 días de experimentación, no se encontraron efectos significativos por ninguna de las variables estudiadas.

La evaluación realizada a los 42 días muestra una tasa de crecimiento mayor para los camarones alimentados con ambos vitamina E y ETQ (D8) (Fig. 15), sin embargo este grupo no es significativamente diferente de los demás; en esta fecha no se encontraron efectos por ninguna de las variables estudiadas.

A los 56 días, la probabilidad del efecto de la suplementación con ETQ fué $P=.065$, que se podría tomar como significativo si se asume un riesgo del 6 %; los camarones alimentados con dietas suplementadas con ETQ dietas D6 y D8 (AAO+ETQ y AAO+ETQ+VIT E) muestran una tasa de crecimiento mayor, pero es evidente que la vitamina E en presencia de ETQ den una respuesta positiva sobre este parámetro ya que el grupo de camarones alimentados con la dieta D8 (AAO+ETQ+VIT E) presenta la mayor tasa de crecimiento (Fig. 15).

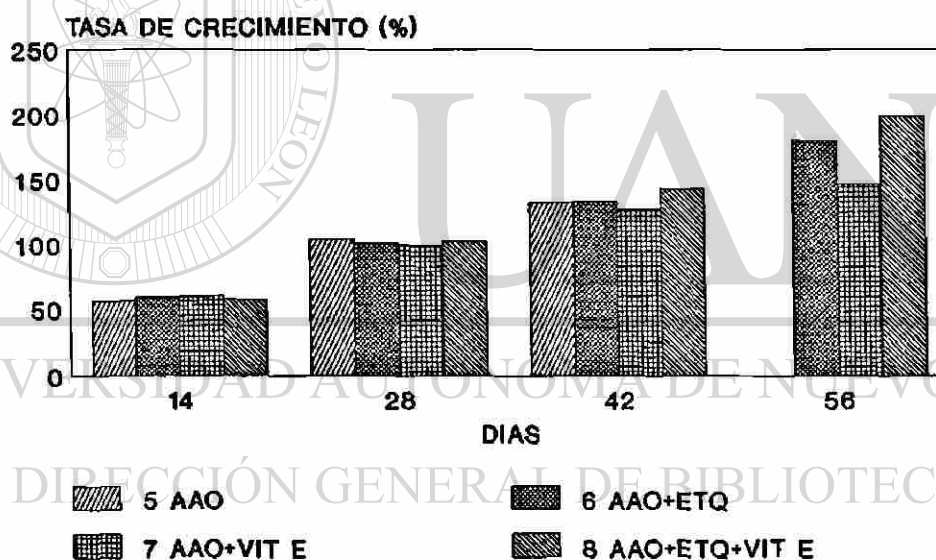


Figura No. 15. Tasa de Crecimiento
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ).

Tabla No. 16.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA TASA DE CRECIMIENTO DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS	/	DIAS	0-14	0-28	0-42	0-56
D5 AAO		\bar{x}	56.65	104.55	132.94	---
		\pm	8.24	17.47	22.87	---
D6 AAO+ETQ		\bar{x}	59.68	101.39	133.21	180.34
		\pm	2.76	8.62	22.27	28.13
D7 AAO+VIT E		\bar{x}	59.79	100.01	126.93	147.16
		\pm	8.67	13.15	22.38	30.92
D8 AAO+ETQ+VIT E		\bar{x}	57.78	102.81	143.30	199.12
		\pm	11.32	12.85	29.07	44.17

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES:
 SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E y/o
 SUPLEMENTACION O NO DE ETQ.

GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 y 8.

Supl. o no Vít E	P	.871	.798	.773	.504
Supl. o no ETQ	P	.892	.976	.473	.065
Interacciones	P	.510	.626	.522	---
Oneway	P	.9171	.9558	.7928	.1648

P=Probabilidad

VI.5.2.4. TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

En la tabla No. 17 se muestran los resultados promedio de la tasa de conversión alimenticia. Después de 28 días del experimento, no se observó tendencia de algún grupo en presentar la mayor o menor tasa de conversión alimenticia (Fig. No. 16). El comportamiento de este parámetro en los camarones fué indistinto en todo el experimento además no se encontraron efectos significativos durante todo el experimento en los análisis bifactoriales por ANOVA por ninguna de los factores estudiados.

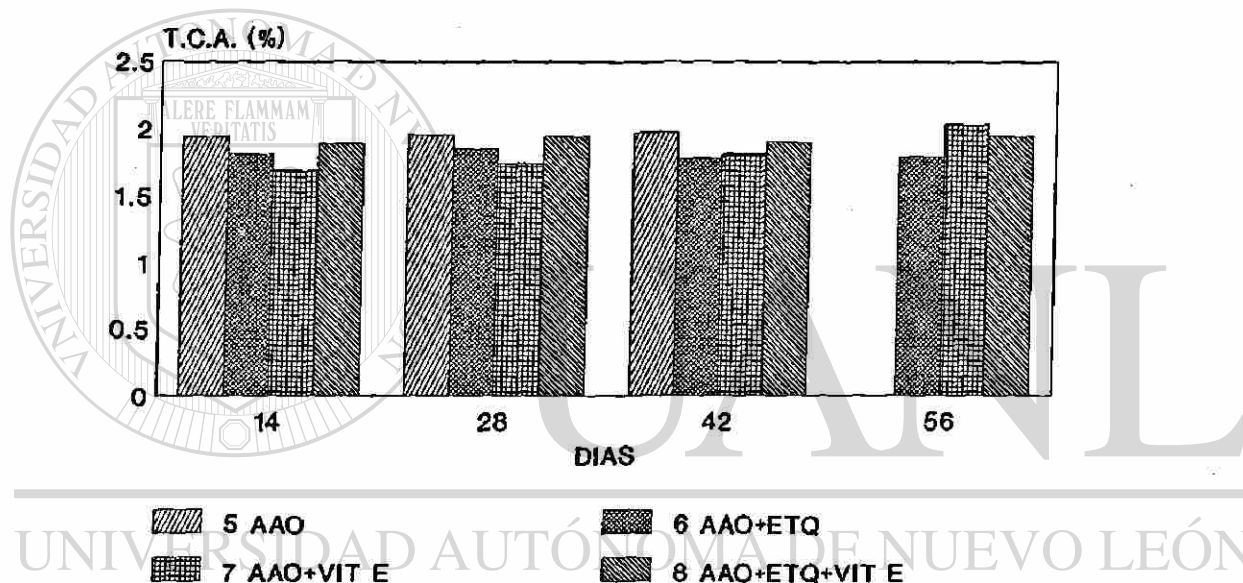


Figura No. 16. Tasa de Conversion Alimenticia.
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ).

Tabla No. 17.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA T.C.A. DURANTE EL BIOENSAYO.

DIETAS / DIAS		0-14	0-28	0-42	0-56
D5 AAO	\bar{x}	1.94	1.95	1.97	---
	\pm	0.24	0.39	0.22	---
D6 AAO+ETQ	\bar{x}	1.81	1.85	1.78	1.79
	\pm	0.10	0.19	0.16	0.33
D7 AAO+VIT E	\bar{x}	1.69	1.74	1.81	2.03
	\pm	0.32	0.13	0.27	0.46
D8 AAO+ETQ+VIT E	\bar{x}	1.89	1.94	1.90	1.94
	\pm	0.27	0.29	0.36	0.30

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES:
 SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E y/o
 SUPLEMENTACION O NO DE ETQ.

GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 y 8.

Supl. o no Vit E	P	.508	.642	.935	.598
Supl. o no ETQ	P	.794	.714	.792	.711
Interacciones	P	.190	.229	.316	---
Oneway	P	.5115	.5984	.7620	.7017

P=Probabilidad

VI.5.2.5. RELACION HEPATOSOMATICA

Los resultados promedio de la relación hepatosomática se resumen en la tabla No. 18. Los análisis bifactoriales no encuentran efectos significativos para la suplementación con vitamina E, sin embargo la probabilidad para el efecto de la suplementación con ETQ es ($P=.071$) que se podría tomar como significativa asumiendo un riesgo del 7 %. La D6 suplementada con ETQ presentó una relación hepatosomática mayor (Fig No. 17) que los camarones alimentados con las dietas D5 (no suplementada) y D7 (suplementada con vitamina E), sin embargo se encuentra como en algunos parámetros anteriores que cuando se suplementan ambos ejercen una respuesta positiva ya que los camarones alimentados con la D8 presentaron la mayor relación hepatosomática.

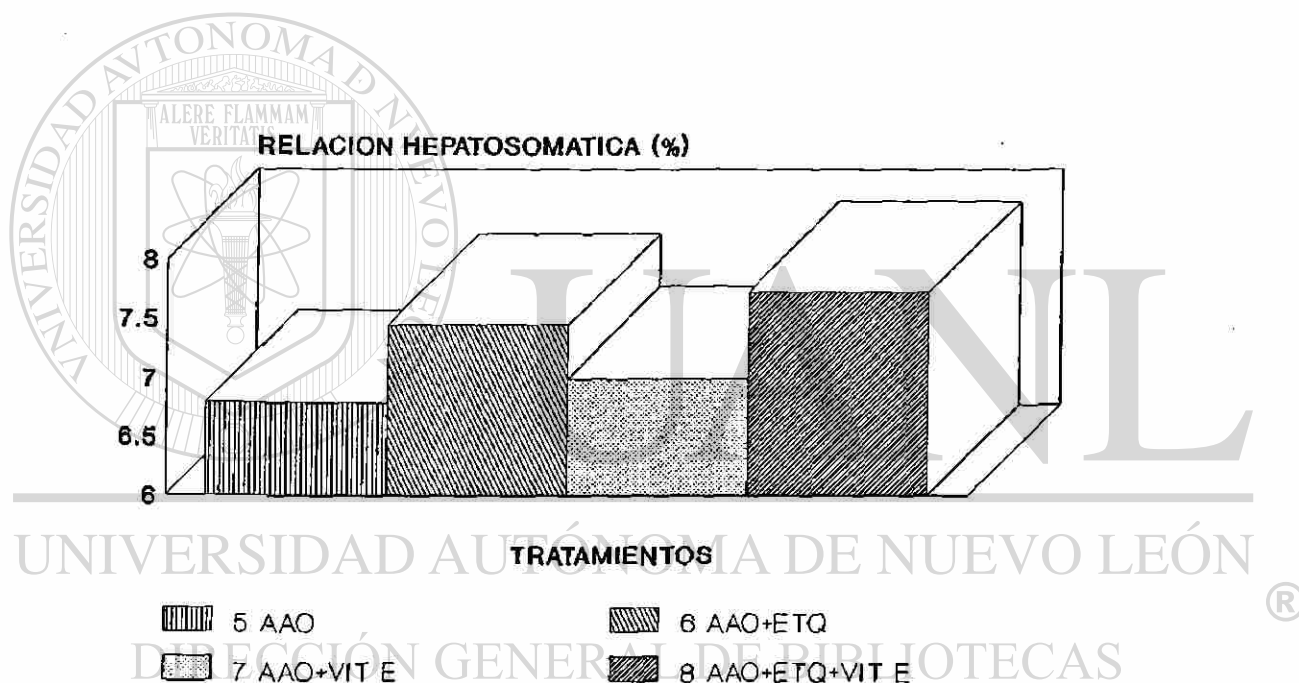


Figura No. 17. Relación Hepatosomática.
(Aceite Altamente Oxidado Con/Sin Vitamina E, Con/Sin ETQ).

Tabla No. 18.- RESULTADOS PROMEDIO DE LA RELACION HEPATOSOMATICA

DIETAS	/	No. de muestras	Promedio	D.E.
D5	AAO	5	6.8	1.51
D6	AAO+ETQ	18	7.45	1.37
D7	AAO+VIT E	29	7.00	1.78
D8	AAO+ETQ+VIT E	34	7.73	1.81

NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA LOS FACTORES:
 SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E y/o
 SUPLEMENTACION O NO DE ETQ.
 GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 y 8.

Supl. o no ETQ	P	.071
Supl. o no Vit E	P	.544
Interacción	P	.937
Oneway	P	..3397

P= Probabilidad

D.E.=Desviación Estandar

VI.6. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL AGUA

Durante todo el bioensayo los parámetros fisico-químicos del agua fueron los siguientes: pH 8.2 ± 0.02 , temperatura 26.9 ± 0.99 , S $^{\circ}/_{\infty}$ 35.7 ± 0.84 , amonio (NH $_3$) 0 a 0.1 ppm, nitritos (NH $_2$) de 0 a 0.1 y nitratos (NO $_3$) 36.75 ± 5.85

VII. DISCUSION

VII.1. OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO

VII.1.1 CAMBIOS DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO

El aceite de pescado experimental adquirido fué el adecuado para realizar esta investigación ya que no estaba estabilizado con antioxidante sintético (importante para poder oxidarlo con el A.O.M.); fué envasado con atmósfera de nitrógeno hasta su utilización (para evitar la acción dañina del oxígeno atmosférico) y, lo más importante fué un aceite con bajo valor de V.P. (6 meq/kg de aceite).

Al oxidarlo con A.O.M. se observó un incremento lineal y curvilíneo de los valores de V.P., V.A. y # de T.B.A.; según lo que la literatura comúnmente menciona respecto al desarrollo de la oxidación y a la formación de compuestos aldehídicos alfa-beta insaturados, principalmente 2-alkenals (detectados por V.A.) como productos intermediarios-finales de la oxidación, se esperaban por lo tanto bajos valores de V.A. durante las primeras horas de aereación, ya que se suponía estos valores se incrementarían en las horas posteriores (también se observaron en preliminares realizados con aceite de sardina); de hecho al comparar las cinéticas de V.A. y V.P., se observa que el aumento de V.A. se acelera después de las primeras 8 horas de oxidación, mientras que para V.P., al contrario, la velocidad del aumento fué mayor durante las primeras 8 horas. Estas cinéticas también son similares parcialmente con las realizadas en los trabajos de Hung *et al* (1980), donde ellos encontraron valores muy bajos de V.A. durante las primeras horas de aereación del aceite de pescado sometido a oxidación creciente y mencionan que durante las primeras horas de aereación V.A. no es recomendable para monitorear los cambios oxidativos del aceite de pescado.

De las tres técnicas empleadas para monitorear el grado de oxidación del aceite de pescado, el V.P. fué el más sencillo, rápido y confiable en comparación que las otras dos técnicas que son espectrofotométricas y que pueden dar lecturas al espectrofotómetro muy variables aún en una misma muestra, sin embargo las tres técnicas se realizaron por ser las más utilizadas para aceites tanto de origen animal como vegetal (A.O.A.C. 1990).

Por otra parte los valores de peróxido reportados por el laboratorio de Ralston Purina para nuestro aceite experimental (tabla No. 5), son inferiores (con un factor de 2X) a los encontrados en nuestro laboratorio posiblemente por que se empleó una técnica diferente con una distinta metodología. El V.P. de 6 meq/kg de aceite determinado en nuestro laboratorio fué adecuado ya que se realizaron hasta con 5 replicados; además las especificaciones enviadas por Zapata Proteins para este indicador fueron un contenido inferior de 10 meq/kg de aceite.

Los valores de T.B.A. reportados tampoco son parecidos, pero no difieren tanto como los de V.P.; las diferencias en los resultados podrían deberse a diversas causas como químicos, reactivos y solventes utilizados, el material y el equipo empleado, sin embargo lo importante a considerar es que los valores se incrementan conforme se aumenta el grado de oxidación del aceite de pescado.

VII.1.2. CAMBIOS EN LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DEL ACEITE DE PESCADO.

Se observó que a medida que aumentó el grado de oxidación del aceite de pescado, los principales ácidos grasos que más disminuyeron (en un 18-20%) fueron los de la familia omega-3, especialmente el 20:5 ω -3 eicosapentaenoico (EPA) y el 22:6 ω -3 docosahexaenoico (DHA) que son considerados como esenciales para el camarón (Akiyama y Dominy, 1989). Por otra parte los ácidos grasos linoleico 18:2 ω -6 y linolénico 18:3 ω -3 considerados como semiesenciales, parecen resistir mejor la oxidación, ya que no mostraron cambios tan drásticos entre los diferentes grados de oxidación del aceite de pescado (sólo disminuyeron 5 y 10 de su cantidad inicial, respectivamente).

Estos resultados son similares a los reportados por Hung *et al.* (1981), donde encuentran que la oxidación inducida en el aceite de pescado de arenque, ocasiona cambios en los ácidos grasos poliinsaturados con la destrucción principalmente de los ácidos grasos ω -3 excepto en los ácidos grasos ω -6 entre el aceite fresco y el aceite altamente oxidado.

Por otra parte la composición de ácidos grasos entre el aceite fresco y el moderadamente oxidado no fué muy diferente en comparación con el aceite altamente oxidado, en el cual si es evidente una composición diferente, en particular menor cantidad de ácidos grasos ω -3 que fueron reducidos por la oxidación en este aceite.

Lo anterior correlaciona perfectamente con los resultados de las evaluaciones biológicas de nuestro experimento, y podrían explicar los bajos crecimientos observados en los grupos de camarones alimentados con las dietas que contenían aceites altamente oxidados, aunque al hacer los cálculos teóricos de ácidos grasos en los alimentos, éstos cubren el requerimiento aún después de la oxidación (si no se considera otro tipo de pérdida).

Se considera que la delipidación de los ingredientes: harina de pescado y camarón fué adecuada ya que estos dos ingredientes son fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados (Opstved, 1985), especialmente la harina de pescado por su alto porcentaje de inclusión en la formula experimental. Lo anterior dió la seguridad de que el efecto de la oxidación fuera generado solo y exclusivamente por el aceite de pescado experimental. Las otras fuentes no fueron consideradas, ya que el porcentaje de lípidos de cada una de ellas fué mínimo y los ácidos grasos que aportaban fueron principalmente de la familia ω -6 que no son tan susceptibles a la oxidación como se observó anteriormente (Tabla No. 6).

VII.2. ANALISIS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Por la composición nutricional de los ingredientes utilizados para elaborar los alimentos experimentales basados en la formulación: a un nivel de proteína del 30 % y un nivel de lípidos alrededor de un 7.5 %, se puede inferir que se cubrieron los requerimientos nutricionales con las dietas experimentales suministradas a los camarones, aunado lo anterior a que por la homogeneidad en la composición proximal estas tuvieron características de ser isoproteicas, isolipídicas e isocalóricas de acuerdo a las recomendaciones de Akiyama (1991).

La estabilidad de los alimentos es un parámetro de gran utilidad e importancia

teniendo en cuenta la forma de alimentarse de los camarones, se puede deducir la necesidad de una presentación adecuada del alimento, para los animales en cultivo: los pellets ó gránulos deben tener una consistencia y un tamaño adecuado para que los crustáceos puedan manipularlos fácilmente con la ayuda de sus apéndices, sin que se rompan en pequeños pedazos y además puedan ser estables en el agua, un tiempo suficientemente largo, sin deshacerse antes de ser consumidos (Cruz Suárez, 1990). En el presente trabajo los alimentos que se elaboraron presentaron una gran estabilidad y poca pérdida de materia seca durante el tiempo en que se sometieron a la prueba de lixiviación; además por apreciación visual se comprobó que los alimentos permanecían estables por más de 8 horas en el agua. Por lo se pudo inferir que los organismos consumieron alimentos con los beneficios de la formulación.

VII.3. ANALISIS DEL GRADO DE OXIDACION DE LAS DIETAS

Mientras que las técnicas fueron utilizadas para determinar el grado de oxidación del aceite de pescado sin interferencia alguna, estas fueron difíciles de implementar para determinar la rancidez de la grasa del alimento experimental. Ya que ambos métodos son colorimétricos, son afectados por la gran cantidad de pigmentos cromógenos provenientes de los alimentos que interfieren grandemente en las determinación del grado de oxidación. Por otra parte el # de T.B.A. parece ser mejor que V.P. y V.A. para determinar la rancidez de los alimentos, debido a que la grasa extraída se somete a una destilación donde los pigmentos son removidos evitando la interferencia durante la espectrofotometría. Sin embargo los valores encontrados para V.P. y # T.B.A. fueron más bajos de lo esperado. Esto concuerda con lo reportado por Murai y Andrews (1974) y por Hung *et al* (1980), donde los valores de V.P., V.A. y # de T.B.A. del aceite de pescado fresco, moderadamente oxidado y altamente oxidado fueron significativamente más bajos cuando se mezclaron con los ingredientes y se peletizaron las dietas. Ellos atribuyen la disminución en parte a un efecto de dilución, ya que el aceite fué adicionado en un 7.5 % a la dieta, y a que puede haber una destrucción de malonaldehído (M.A.) durante la peletización de las dietas, además los productos de la rancidez formados durante la oxidación del aceite de pescado al mezclarse con los otros ingredientes posiblemente pueden unirse e interactuar con algunos componentes del alimento como las proteínas, aminoácidos, etc. haciéndolos no disponibles para su extracción con solventes (Badui 1993). En este caso la rancidez del aceite en la dieta queda confirmado por el más bajo crecimiento presentado en los organismos alimentados con las dietas D6 y D8 en comparación a los alimentados con las dietas D1 a D4.

VII.4. EFECTOS DEL GRADO DE OXIDACION DEL ACEITE DE PESCADO Y DE LA SUPLEMENTACION O NO CON VITAMINA E.

El grado de oxidación utilizado en este experimento permitió cubrir un amplio rango de rancidez para conocer su efecto en el camarón blanco *Penaeus vannamei*. En previos trabajos realizados en peces donde se utilizó el grado de oxidación "ligeramente oxidado" (V.P. = >10 y <30 meq/kg), no se encontraron diferencias significativas con el grado "fresco" (Hung et al. 1980 y 1981), por lo cual este grado de oxidación fué descartado del diseño experimental.

VII.4.1. SOBREVIVENCIA

Aunque en los primeros 28 días del experimento no se encontraron efectos en sobrevivencia por el grado de oxidación, ni por la suplementación con vitamina E, las altas mortalidades que se encontraron en los grupos de camarones alimentados con la D1 (aceite fresco + ETQ) (mortalidad no esperada) a los 42 días, D3 a los 42 días y D6 a los 56 días, posiblemente esten relacionadas principalmente a deficiencias de vitamina E, ya que las tres dietas no fueron suplementadas con esta; esto se vió aumentado debido a que los camarones recibieron un pretratamiento que consistió en alimentarlos durante 8 días con una dieta libre de vitamina E para que disminuyeran sus reservas de esta vitamina; posiblemente este pretratamiento no fué lo suficientemente severo para disminuir completamente sus reservas y es por ello que no mostraron una mortalidad tan temprana; sin embargo después de cuatro semanas posiblemente estas reservas empezaron a agotarse y fué cuando empezó a encontrarse una mortalidad importante aunque se les haya alimentado con una dieta con aceite fresco que es una fuente de vitamina E; posiblemente la vitamina E (no protegida) presente en el aceite pudo haber sido degradada durante la peletización.

Esto concuerda con la alta mortalidad y disminución del crecimiento que fueron observados por He *et al.* (1992) al alimentar a postlarvas de *Penaeus vannamei* (40 mg de peso promedio) con dietas semipuras deficientes en vitamina E, después de 14 días de experimentación; sin embargo la mortalidad temprana presentada en este caso podría deberse a que las dietas fueron semipuras, además en el proceso de extrusión, al elaborar los alimentos pudo haber perdido cierta cantidad suplementada de vitamina E, ya que no fueron protegidos por algún antioxidante. En el presente caso algún ingrediente utilizado en la dieta compuesta pudo aportar cierta cantidad que mantuvo a los organismos durante un tiempo más largo; además las dietas fueron protegidas con ETQ para evitar una oxidación y proteger a la vitamina E durante la extrusión. Por otra parte He *et al.* (1992), mencionan que la vitamina E es esencial para los camarones para mantener una buena sobrevivencia y un crecimiento normal, ya que como antioxidante liposoluble intracelular evita la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las biomembranas en los tejidos y en alimentos.

He y Lawrence (1993), al alimentar a postlarvas (PL5-6) de *P. vannamei* de 0.14 g de peso promedio con dietas semipuras con diferentes niveles de vitamina E, no suplementadas con antioxidante sintético encontraron que 100 mg/kg de dieta de vitamina

E era el nivel satisfactorio. El nivel suplementado en las dietas del presente experimento, es similar al de He y Lawrence, corroboró que éste es el adecuado para dar una sobrevivencia aceptable, sin generar un exceso que actuara como antioxidante en el alimento.

En el caso de la alta mortalidad de los camarones alimentados con la D1, esta es similar a la reportada por Murai y Andrews (1974), quienes encontraron importantes mortalidades en bagres de canal *Ictalurus punctatus*, cuando se les alimentó con dietas conteniendo lípidos no oxidados, sin antioxidante sintético. Así mismo mencionan que la presencia de ácidos grasos poliinsaturados ó aceites oxidados, aumenta la severidad de las deficiencias de la vitamina E.

En cuanto al efecto de la rancidez sobre la sobrevivencia, se puede constatar que no hubo más mortalidad en los camarones alimentados con la D6 que con la D1 y D3 por lo que la rancidez del aceite (en una dieta suplementada con ETQ, pero sin vitamina E) no provoca mortalidad adicional.

Lo anterior concuerda con las altas sobrevivencias encontradas en los trabajos realizados por Hung *et al.* (1980 y 1981) sobre el efecto de los aceites oxidados de arenque en la trucha arcoiris *Salmo gairdneri*, los cuales no mostraron mortalidad importante ni diferencias significativas en los organismos alimentados con dietas conteniendo aceites frescos y altamente oxidados (V.P. = 6 a 120 meq/kg de aceite), debido a que durante todo el experimento las dietas presentaron un nivel de vitamina E superior al recomendado para estos organismos, por lo que se cubrieron adecuadamente las necesidades.

Por su parte Koshio *et al.* (1993) al alimentar a larvas de *Penaeus japonicus* con dietas conteniendo aceites oxidados de diferentes fuentes: maíz, hígado de calamar e hígado de pollack incluídos a un 11 % de la formulación con un V.P. de 0.6 a 39.8 meq/kg de aceite, no encontraron mortalidad en los organismos alimentados. Ellos también alimentaron a juveniles de *P. japonicus* de 0.200 g de peso promedio con dietas conteniendo aceites oxidados de maíz e hígado de pollack con V.P. de 0.6 a más de 40 meq/kg de aceite, sin observar mortalidad después de 30 días de alimentación, lo anterior debido posiblemente a que la mezcla vitamínica utilizada en la dieta cubrió adecuadamente los requerimientos ya que no se observaron signos de deficiencia de vitamina E, como alta mortalidad.

En el presente estudio, la ausencia de mortalidad adicional por rancidez en dietas sin vitamina E (pero con ETQ) obliga a pensar que la rancidez en si no provoca mortalidad, sin embargo no se sabe si la presencia de ETQ en las dietas fué responsable de esta ausencia de respuesta a la rancidez en términos de mortalidad. Un eventual efecto protector del ETQ, no puede ser demostrado, ya que no se contó con una dieta con aceite fresco sin ETQ y vitamina E; sólo se contó con la dieta 5 (aceite altamente oxidado sin ETQ, ni vitamina E), para la cual la mortalidad fué más precoz.

VII.4.2. TASA DE CRECIMIENTO

El análisis bifactorial del efecto de la suplementación con vitamina E y del grado de oxidación demostró que el crecimiento fué afectado significativamente sólo por el alto grado de oxidación (V.P. = 100 meq/kg de aceite).

Las respuestas en crecimiento son similares a las reportadas por Koshio *et al.* (1993);

ellos al alimentar a juveniles de *Penaeus japonicus* con dietas conteniendo aceite fresco, ligeramente y moderadamente oxidado (V.P.= 0.6, 24.6, y 39.8 meq/kg de aceite respectivamente) no encontraron un efecto significativo al utilizar estos grados de oxidación sobre el crecimiento.

En el presente experimento la similitud de la tasa de crecimiento en los camarones alimentados con dietas conteniendo aceite fresco y aceite moderadamente oxidado posiblemente se deba en parte a la casi similar composición de ácidos grasos que presentaron ambos aceites (única fuente de lípidos con ácidos grasos poliinsaturados ω -3); además la baja tasa de crecimiento en los camarones alimentados con aceite altamente oxidado se podría explicar por la disminución de ácidos grasos esenciales ω -3 principalmente E.P.A y D.H.A. demostrada por el análisis de ácidos grasos (Tabla No. 6), sin embargo aunque teóricamente si se cumple con los requerimientos recomendados por Akiyama (1991) para los ácidos grasos esenciales, no se descarta alguna pérdida durante la extrusión y desafortunadamente como se mencionó anteriormente a la fecha de impresión de este escrito aun no se contaba con los análisis de ácidos grasos de las dietas que permitiera emitir una conclusión más contundente; por otra parte la baja en crecimiento de estos grupos también pudo verse influida por el bajo consumo que se observó y que se menciona posteriormente.

Por su parte Hung *et al.* (1980 y 1981) al alimentar a trucha arcoiris *Salmo gairdneri* con dietas conteniendo aceites fresco, moderadamente oxidados y altamente oxidado (V.P.= 6, 50 y 120 meq/kg de aceite respectivamente) a un nivel de inclusión de 7.5 % de la formulación, no mostraron diferencias significativas después de alimentarlos durante 24 semanas. Lo anterior probablemente debido a que aun las dietas conteniendo aceite altamente oxidado presentaron más del 1 % del peso de ácidos grasos poliinsaturados ω -3, satisfaciendo así los requerimientos de estos ácidos grasos para las truchas.

Murai y Andrews (1974) mencionan que sólo se observó una sustancial reducción del crecimiento en los bagres de canal *Ictalurus punctatus* con dietas conteniendo niveles extremadamente altos de aceite oxidado y bajos niveles de α -tocoferol después de alimentarlos durante 16 semanas.

Por lo tanto se puede inferir que las bajas tasas de crecimiento son probablemente el resultado de deficiencias de ácidos grasos ω -3 y por el consumo menor de alimento, ocurriendo solo a un alto grado de oxidación (V.P. = 100 meq/kg de aceite).

VII.4.3. TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

En este experimento aparentemente la tasa de conversión alimenticia no se afectó significativamente por el grado de oxidación del aceite de pescado, ni por la suplementación de vitamina E, lo que concuerda con los resultados de Hung *et al.* (1980 y 1981).

VII.4.4. TASA DE CONSUMO

En los experimentos llevados para determinar el efecto de la oxidación del aceite de pescado sobre peces, no se determinaron las tasas de consumo de alimento a excepción del experimento de Koshio *et al.* (1994), sin embargo este investigador encontró un consumo

ligeramente disminuido pero no se encontraron diferencias significativas. En el presente trabajo se encontró que la tasa de consumo de alimento se afectó significativamente por el grado alto de oxidación del aceite de pescado. Los camarones que menos consumieron alimento fueron aquellos alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado. Este resultado se asemeja a lo observado en especies terrestres como: cerdos, ganado, aves, etc., ya que los lípidos son los responsables del sabor del alimento, se ha visto que los productos de la rancidez como ácidos y aldehídos son los responsables principales de olores y sabores relacionados con grasas oxidadas, que reducen significativamente la palatabilidad del alimento haciendolos menos aceptados para su consumo (McDonald et al. 1993). Se ha observado que en cerdos los cuales tienen un sentido del gusto muy desarrollado, cuando se les administra alimentos con lípidos rancios no lo consumen.

En el presente estudio, el consumo disminuido por la rancidez explica la reducción del crecimiento mencionado anteriormente. En ausencia de efecto de la rancidez sobre la tasa de conversión alimenticia, el consumo menor explica el crecimiento menor con aceites altamente oxidados.

VII.4.5. RELACION HEPATOSOMATICA

Al alimentar a los camarones con aceites oxidados, se esperaba una atrofia y un color pálido del hepatopáncreas (Liao *et al.*, 1977; Lightner y Redman, 1985). Sin embargo se encontró que los mayores hepatopáncreas fueron los de aquellos alimentados con las dietas conteniendo aceite altamente oxidado, mientras se observó una atrofia para las dietas no suplementadas en vitamina E. Por otra parte, se observó una coloración acentuada en los camarones moribundos, que parece estar relacionada al síndrome de "enfermedad roja" descrita por Liao *et al.* 1992.

Es probable que la atrofia del hepatopáncreas mencionada por los autores op. cit. era debida a la carencia de vitamina E, provocada por la rancidez, ya que la vitamina E probablemente no era protegida por algun antioxidante, y fué consumida por las reacciones de oxidación en el alimento. Sin deficiencia de vitamina E, la rancidez mas bien provocaría problemas de tipo metabólico por la carencia de ácidos grasos poliinsaturados (bajo crecimiento, hígado graso).

VII.5. EFECTO DE LA SUPLEMENTACION O NO CON VITAMINA E Y DE LA SUPLEMENTACION O NO CON ANTIOXIDANTE SINTETICO ETOXIQUIN (ETQ).

VII.5.1. TASA DE SOBREVIVENCIA

La alta mortalidad encontrada en los camarones alimentados con la D5 (AAO y no suplementada) era de esperarse, debido a que los camarones recibieron un pretratamiento para agotar sus reservas de vitamina E (mencionado anteriormente). Por otro lado por el consumo de dieta con lípidos rancios se presentó una temprana y alta mortalidad. Como se mencionó anteriormente la alta mortalidad esta relacionada con la deficiencia de vitamina E, la cual se aumentó por la presencia de lípidos rancios.

He *et al.* (1992) mencionan que la vitamina E es el antioxidante intracelular que protege a los ácidos grasos de las biomembranas de la oxidación. He *et al.* (1993) mencionan que la vitamina E previene la peroxidación de los ácidos grasos de fosfolípidos y colesterol en membranas celulares y subcelulares; el aumento en la susceptibilidad de los lípidos de las membranas a la peroxidación es el signo más común de deficiencia en la mayoría de los animales. Ellos encontraron que la susceptibilidad a la peroxidación estimulada por el ácido ascórbico fué menor en las membranas microsomales y mitocondriales del hepatopáncreas que del músculo. Estas diferencias sugieren que la vitamina E está más concentrada en el hepatopáncreas, lo cual es similar en peces (hígado).

En este experimento se están realizando análisis de vitamina E en el hepatopáncreas y en el músculo de los camarones alimentados con las dietas suplementadas o no con vitamina E y/o ETQ. Desafortunadamente a la fecha de la redacción de este manuscrito no se contaba con los resultados de los análisis para comprender mejor los resultados encontrados.

Por otra parte Murai y Andrews (1974) mencionan que la presencia de ácidos grasos poliinsaturados y la presencia de lípidos rancios aumenta la severidad de deficiencia de vitamina E. Se puede pensar que la rancidez actúa a este nivel, aumentando la susceptibilidad a la peroxidación en las biomembranas que repercutió en la alta mortalidad.

En el caso de los grupos D6 y D8 se observó que la suplementación con ETQ fué beneficiosa en disminuir la mortalidad en los camarones alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado suplementada con ETQ (D6); este grupo de camarones mostró mayor sobrevivencia que aquellos alimentados con la D7 (AAO+VIT E), sin embargo, cuando se suplementa con ambos se observa un mayor sobrevivencia.

He y Lawrence (1993) encontraron que al suplementar dietas con 16 mg de BHT/kg de dieta fué altamente efectivo en inhibir la peroxidación de los lípidos dietéticos. Sin embargo poco efecto antioxidante fue observado en la peroxidación lipídica estimulada por el ácido ascórbico en las membranas microsomales y mitocondriales. Estas evidencias sugieren que el BHT actúa mejor como antioxidante *in vitro* que *in vivo*. Draper 1980 (Citado por He y Lawrence 1993) sugiere que la inhabilidad de los antioxidantes sintéticos en substituir a la vitamina E se puede deber a la ineficiente absorción, transporte, translocación a las membranas celulares.

El efecto benéfico de reducción de la mortalidad fué también encontrado por Hung *et al.* (1981) al alimentar a trucha arcoiris con dietas conteniendo aceites altamente oxidados (P.V. = 120 meq/kg de aceite) suplementadas con ETQ, después de alimentarlos durante 24 semanas encontraron que el ETQ fué beneficioso en reducir la mortalidad sólo en aquellos peces alimentados con dietas conteniendo aceite altamente oxidado, sin la suplementación de vitamina E.

Los efectos benéficos de la suplementación con ETQ en prevenir la mortalidad en el presente estudio, no fueron observados por Murai y Andrews (1974). Estos autores alimentaron a bagres de canal *Ictalurus punctatus* con dietas con 10% de aceite oxidado (V.P. = 60 meq/kg de aceite), y sin la suplementación de vitamina E. Después de 16 semanas de alimentación, no se observaron diferencias en mortalidad en los bagres alimentados con las dietas antes mencionadas ni con la suplementación de 0 ó 125 mg de ETQ/kg de dieta.

VII.5.2. TASA DE CONSUMO

Durante la primera parte del experimento, no se encontraron efectos por la suplementación con vitamina E, ni por la suplementación con ETQ. A los 56 días del bioensayo se encontraron efectos significativos por la suplementación con ETQ ya que fué benéfica: aumentó la tasa de consumo (aún en presencia de aceite altamente oxidado). Como se ha visto y mencionado anteriormente en los diferentes trabajos realizados con el tema en peces y crustáceos no se reporta este parámetro y sólo se puede comparar con especies terrestres donde se ha visto que las dietas rancias tienen menor apetecibilidad (McDonal et al., 1993). Además se puede suponer que la suplementación con vitamina E y ETQ impidieron un desarrollo mayor de la oxidación durante el procesamiento y almacenamiento de la dieta.

VII.5.3. TASA DE CRECIMIENTO

Para este grupo de camarones alimentados todos con aceite altamente oxidado, suplementados o no con vitamina E y/o ETQ, no se encontraron efectos significativos durante los primeros 42 días del experimento, esto posiblemente debido a la ausencia de efecto de alguno de los factores durante el primer mes del bioensayo. A los 56 días es claro el mayor efecto benéfico del ETQ+VIT E sobre la dieta con vitamina E sólo en este parámetro.

VII.5.4. TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

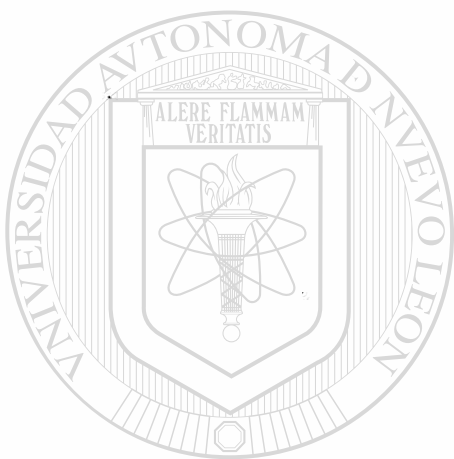
Este parámetro no fué afectado significativamente en todo el bioensayo, posiblemente también este relacionado como se ha mencionado anteriormente a que todos los camarones fueron alimentados con el mismo aceite altamente oxidado que contenía la misma composición de ácidos grasos poliinsaturados y aunque las dietas fueron suplementadas o no con vitamina E y/o ETQ, estos no ejercen ninguna influencia en este parámetro (sólo en sobrevivencia).

VII.5.5. RELACION HEPATOSOMATICA

Tal y como se esperaba, los hepatopáncreas de los camarones alimentados con AAO (D5), fueron los más pequeños, sin embargo no existen diferencias significativas con los otros grupos (D6, D7 y D8), por otra parte se encontró un efecto significativo por la suplementación con ETQ ($P=.07$ asumiendo un riesgo del 7%) y se observó que los hepatopáncreas de los camarones alimentados con la D6 (AAO+ETQ) fueron mayores a los de los camarones alimentados con D5 (AAO) y D7 (AAO+VIT E), sin embargo como se ha visto anteriormente, cuando esta presente la vitamina E y el ETQ, se encuentra una respuesta positiva ya que los hepatopáncreas de los camarones alimentados con la D8 (AAO+VIT E+ETQ) son aun mayores (no significativo) que los de los otros camarones mencionados anteriormente.

El efecto benéfico del ETQ sobre el hepatopáncreas visto en este experimento

contrasta con lo encontrado por Bautista *et al.* (1992), el cual menciona que en el hepatopáncreas de juveniles de camarón *Penaeus monodon* todos los antioxidantes sintéticos que se han probado (BHT, BHA, propil galato, ETQ) afectan al órgano ya que se observaron cambios histopatológicos, pero no afectan el crecimiento. Lo anterior posiblemente sea a consecuencia de una sobredosis de antioxidante y que efectivamente cause algún daño al hepatopáncreas. En este caso se considera que el ETQ fué benéfico, protegiendo la vitamina E todavía presente en el alimento y evitando la atrofia del hepatopáncreas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

VIII. CONCLUSIONES

EFECTO DE LA RANCIDEZ:

El aceite de pescado altamente oxidado (V.P. = 100 meq/kg de aceite) en presencia de ETQ, disminuyó la tasa de consumo de alimento y el crecimiento del camarón blanco *Penaeus vannamei* sin afectar la tasa de conversión alimenticia.

EFECTO DE LA VITAMINA E:

La ausencia de vitamina E, a cualquier nivel de oxidación del aceite de pescado, provocó mortalidades importantes después de 42 días de experimentación, aún con la suplementación de ETQ (130 ppm), sin ser afectados los parámetros de crecimiento, tasa de consumo y tasa de conversión alimenticia antes de la muerte.

EFECTO COMBINADO DE LA VITAMINA E Y ETOXIQUIN:

La ausencia de vitamina E y ETQ en presencia de aceites de pescado altamente oxidados provocó una mortalidad precoz, a partir de los 15 días de experimentación. La mortalidad disminuyó significativamente sólo con la presencia combinada de vitamina E (100 mg/kg de dieta) y ETQ (130 mg/kg de dieta). Además, la suplementación con ETQ mejoró el consumo y crecimiento a los 56 días.

RELACION ENTRE LOS DIFERENTES FACTORES ESTUDIADOS.

La mortalidad observada en este experimento, parece estar relacionada a una deficiencia de vitamina E, pero no a la rancidez.

La rancidez no tuvo efecto negativo sobre la sobrevivencia, pero si provocó una disminución del consumo y, por lo tanto, del crecimiento ya que la tasa de conversión no fué afectada. El efecto sobre el consumo podría ser por la mala palatabilidad generada por los productos de la oxidación: aldehidos y cetonas.

La reducción del 20% del contenido en ácidos grasos esenciales ω -3 en el aceite de pescado altamente oxidado no parece haber tenido un impacto mayor sobre la calidad nutricional de la dieta, ya que las tasas de conversión alimenticias fueron uniformes.

Posiblemente el deterioro de los ácidos grasos esenciales del aceite más oxidado, no fué lo suficientemente fuertes para no cubrir los requerimientos, con el nivel de inclusión de aceite utilizado.

La suplementación con ETQ mejoró la sobrevivencia, probablemente debido a la protección conferida a la vitamina E contra las reacciones de oxidación ocurridas en el alimento; también aumentó el consumo, posiblemente por que limitó una oxidación adicional de los ácidos grasos insaturados durante el proceso del alimento.

RELACION DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DEL ACEITE CON LOS INDICADORES DE OXIDACION.

Un aceite (menhaden) se puede considerar de buena calidad nutricional para *Penaeus vannamei* si su grado de oxidación no rebasa un límite ubicado entre 50 y 100 meq/kg de V.P., 30 y 50 mgMA de T.B.A., ó 50 y 180 Densidad Optica de V.A.; ubicados estos rangos con aceites estabilizados con 130 ppm de ETQ, y adicionados a dietas suplementadas con vitamina E (100 ppm) y ETQ (130 ppm).

De las técnicas: V.P., # T.B.A. y V.A. utilizadas para determinar la oxidación o rancidez, V.P. fué la más práctica, sencilla y confiable para el aceite de pescado, pero ninguna de las tres dió resultados confiables después de que los aceites fueron adicionados a las dietas y estas fueron peletizadas.

RELACION HEPATOSOMATICA

La carencia de vitamina E parece ser la responsable de la atrofia del hepatopáncreas. La suplementación de ETQ en la fórmula suprimió este problema, probablemente por su efecto protector de la vitamina E durante el proceso de la dieta. La rancidez (en presencia o ausencia de vitamina E) provocó un aumento de la relación hepatosomática, por razones que el presente experimento no permite esclarecer y que se espera esclarecer a travez del estudio histopatológico.

LITERATURA CITADA

*LITERATURA CONSULTADA

*Ackman R. G. and Burgher R. D. (1964). Cod liver oil: component fatty acids as determined by gas-liquid chromatography. *Journal Fisheries Research Board of Canada*, Vol. 21 (No. 2) 319-326.

Akiyama Dean M. y Tan Ronnie K.H. (1991). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. Thailand and Indonesia. September 18-25, 1991. American soybean association. 80-98 pp.

*Antioxidants. (1986). *Food Technology*. 94-102.

A.O.A.C. . 1990. 15 Th Edition

A.O.M. 1976. Official y Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society, 3 rd ed. (Including Additions and Revisions 1976. Method (A.O.M.) Cd 12-57.

Badui Dergal Salvador. (1993). *Química de los alimentos*. Ed. Alhambra mexicana. 211-277.

*Barlow S.M. and Pike I.H. (sin año). *Fish Meal Markets Future Developments*. IAFMM. pp. 11.

*Barlow S. M. y Windsor M. L. (1984). *Subproductos de pesquería*. IAFFM. pp.24.

Barlow S.M. y Pike I. H. (1990). *Fish meal and oil production and markets 1990; future developments*. 11 pp.

Bell T. A. y Lightner D. V. (1988). *A handbook of normal penaeid shrimp histology*. Publicado por World aquaculture society. Aquaculture development program, state of Hawai. Printed in the U.S.A. by Allen Press, Inc.

Bimbo Anthony P. (1990A). *Production of fish oil*. Cap. 6 en *Fish oils in nutrition*. Edited by Stansby M. E. Ed. Van Nostrand Reinhold. p. 141-179.

Bimbo Anthony P. (1990A). *Processing of fish oils*. Cap. 7 en *Fish oils in nutrition*. Edited by Stansby M. E. Ed. Van Nostrand Reinhold. p 181-225.

Bimbo Anthony P. (1990B). *Capt. 20 Fish meal and oil en The sefood industry*. Editores Martin Roy E. y Flick George J. (1990). Ed. Van Nostrand Reinhold. p. 325-350.

Bimbo Anthony P. y Crowther Jane B. (1992). *Fish meal and oil:current uses*. *JAOCS*, Vol. 69 no. 3. p. 221-227.

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

Bondi Aron A. (1989). *Nutrición animal*. Cap. 6 *Los lípidos y su importancia en la nutrición de los animales monogástricos y rumiantes*. Ed. Acribia, S. A. p. 79 a 108.

*Buck B. F. (1985). *Antioxidant applications*. *The manufacturing confectioner*.

*Camba Nelly. (1990). *Manual de métodos de análisis de productos pesqueros*. Instituto Nacional de Pesca de Ecuador. Boletín científico y técnico. Vol. V No. 4. pp 46.

*Cheftel J.C. y Cheftel H. (1976). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Ed. Acribia. 265-289.

*Cho C. Y. (1987). La energía de los nutrientes en los peces. Nutrición en acuicultura. Vol. II CAICYT, España 197-237.

Cruz Suárez (1990). Fisiología de la digestión de crustáceos y su relación con la composición de los insumos que deben de utilizarse en la formulación de alimentos balanceados; en Curso taller tópicos sobre nutrición y alimentos acuícolas. AMENA-Universidad Autónoma del Edo. de Morelos, p. 33 a 42

*Cruz S. y Ricque M. (1992). Seminario internacional sobre calidad de harinas de pescado en nutrición animal acuícola y pecuaria. Memorias. Facultad de Ciencias Biológicas U.A.N.L.

Cruz Suárez et al. (1994). Utilización de la lecitina en la nutrición acuícola: crustáceos en Memorias del Segundo Simposium de Nutrición Acuícola. pp 35

De La Cruz, M.C., Erazo, G. and Bautista, M.N., 1989. Effect of storage temperature on the quality of diets for the prawn *Penaeus monodon*. Aquaculture, 80:87-95.

Dougherty, M.E., (sin año). The effectiveness of natural antioxidants compared to synthetic antioxidants. Eastman Products Inc., P.O. Box 431, Kingsport TN 37662, USA (unpublished), 10pp..

*Eastman products (1978). Storage stability test for evaluating antioxidant effectiveness in fats, oils, fat containing food and food packaging materials. Eastman food laboratory standard procedures No. 20 and No. 15 publication No. ZG-194B

*Eastman products (sin año). Quantitative determination of TBHQ by gas chromatography. Eastman analytical laboratory standard procedures No. 48. Publication No. ZG-236A

*Eastman products (sin año). Quantitative analysis of fats, oils, and fat-containing food products for TBHQ by colorimetric method. Eastman food laboratory standard procedures No. 49. Publication No. ZG-189E.

*Eastman Products (sin año). Rapid quantitative method of analysis for tertiary butylhydroquinone (TBHQ) in fats and oils. Eastman food laboratory standard procedure No. 51, publication No. 26-202D.

*Egan Harold et al. (1988). Análisis químico de alimentos de Pearson. Ed. C.E.C.S.A.. 520-556 pp.

FAO., (1986). The production of fish meal and oil fisheries. Technical paper 142. Review 1. Fitzgibbon, D. S.; (1969). Historical statistics-fish meal, oil and solubles. U.S. Fish wildlife Service, Bureau of commercial Fisheries Current Fisheries Statistics No. 5105, 30 pp

Fujita, Y., Oshima, T. and Koizumi, C., 1994. Increase in oxidative stability of sardine lipids through heat treatment. Fisheries Science, 60 (3): 289-294.

He Haiqui et al. (1992). Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E y K for penaeid shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture, 103 (1992) p. 177-185.

He Haiqui y Lawrence A. (1993). Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 118 (1993) p. 245- 255.

*Gardner H.W. (1979). Lipid Hydroperoxide Reactivity with Proteins and Amino Acids: A Review. J.

Agric. Food Chem. Vol. 7. 220-227.

*Gray J. I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review (1978). Journal of the american oil chemists' society. vol 55. 539-546.

*Halver J. E. (1989). Fish Nutrition. Academic Press, INC. 2nd ed. 798 p.

*Hardy Ronald W. Feed Manufacturing and Use. Bulletin: Takeda Chemical Industries, LTD Food y Vitamin Division. 29- 30.

Hung S. S. O., Cho C. Y., y Slinger S. J. (1981). Measurement of oxidation in fish oil and its effect on vitamin E nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian journal of fisheries and aquatic sciences 37. 1248-1253.

Hung S. S. O., Cho C. Y., y Slinger S. J. (1981). Effect of oxidized fish oil, DL α -tocopheryl acetate and ethoxyquin supplementation on the vitamin E nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed practical diets. Journal of nutrition III. 648-657.

Hung S.S.O. and Slinger, S.J. (1980). Effect of oxidized fish oil on the ascorbic acid nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). International Journal for Vitamin and Nutrition Research 50, 393-400.

IAFMM, 1981. Fish oil Bulletin No.7 "Método de análisis recomendado para la determinación del valor peróxido en aceites de pescado". p 2.

IAFMM, 1981. Fish oil Bulletin No.8 "Método de análisis recomendado para la determinación del valor anisidina en aceites de pescado". p 2.

*IAFFM. Nutrient analysis tables for U.K. 7 pp.

*IAFFM. (1970). Boletín No. 1. Contenido de aminoácidos disponibles en la harina de pescado. 11 pp.

*IAFFM. (1985). Análisis de nutrientes de harina de pescado chilena.

*Jacobson G. A. (1993). Evaluation of oxidized lipids in foods. INFORM, Vol. 4, No. 7 p. 811 a 818.

*Janssen W. M. M. A. and Germs A. C. (1971). La erosión de la molleja (vómito negro). El sabor de la carne de pollo de mesa (broiler), y la vitamina E. Publicado en el Simposium en Hindsgauy Castle, Dinamarca. pp 15.

*Kanazawa A. (sin año). The nutrition and feed of prawns and shrimp. Kagoshima University. Takeda Chemical Industries, LTD. Food and vitamin division. 30 p.

Karick N. L. (1990). Nutritional value of fish oil as feed animal. Cap.9 en Fish oils in nutrition. Edited by Stansby M.E. Ed Van Nostrand Reinhold. p. 247-267.

King A.E., et al. (1933). Official and tentative method of the american oil chemists' society, 3 rd. ed. (Including additions and revisions 1976), method (A.O.M.) Cd 12-57. Oil Soap, 10 210-270 (1993).

Koshio, S., Teshima, S. and Kanasawa, A., 1994. Effects of dietary oxidized oil for *Penaeus japonicus*. Fisheries Science, 60(3): 283-288.

*Kaitaranta Jukka K. Control of lipid oxidation in fish oil with various antioxidative compounds 810-813.

*Ke P.J. and Woyewod A.D. (1979). Microdetermination of thiobarbituric acid value in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytica chimica acta*. 106. 279-284.

*Kurmaly K. y Lastscha (1993). Rovimix Stay-C for superior vitamin C performance.

Liao I.C., Su M. S., and Chang C. F. (1992). Diseases of *Penaeus monodon* in Taiwan: A review from 1997 to 1991 in Diseases of cultured Penaeid shrimp in Asia and the United States. Proceedings of a workshop in Honolulu, Hawaii. Fulks W. and Main L. editors. Published by The Oceanic Institute 124-137.

*Martin Roy E. and Flick George J. (1990). *Seafood Industry*. Ed. Van Nostrand Reinhold. 32-341.

*Maynard et al. (1981). Los lípidos y su metabolismo en Nutrición Animal, Ed. McGraw-Hill, 4a. ed. p 109 a 143

*Mehlenbacher V. C. (1970). Análisis de grasas y aceites. Cap. IV Estabilidad Ed. Urmo. p. 205 a 252.

McDonald P. et al. (1993). Nutrición animal. Cap. 3 Lípidos. Ed. Acribia, S.A. 4a. ed. p. 29 a 45.

McDonald P. et al. (1993). Nutrición animal. Cap. 5 Vitaminas. Ed. Acribia, S.A. 4a. ed. p. 65 a 101.

*Morris K. (1986). The techniques of lipidology (isolation, analysis and identification of lipids). Chapter 3 Lipid extraction procedures. Editorial Elsevier 2nd. revised edition. p. 100 a 111.

Murai, T. and Andrews, J.W. (1974). Interactions of dietary tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal nutrition*. 104 1416-1431.

*Nettleton Joyce A. (1985). *Seafood nutrition*. Ed. Osprey. 22-205.

New, M.B., 1990. Compound feedstuffs for shrimp culture. In: New M.B., De Saram H. and Singh T. (Editors), proceedings of the Aquatech'90 Conference: Technical and Economic Aspects of Shrimp Farming, Kuala-Lumpur, Malaysia, 11-14 June, Published by the National Library of Malaysia, 341pp.

Niki, E., 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lipids*, 44: 227-253.

*Olle D. (sin año). Ciencia y tecnología de la carne. Teoría y práctica. Industrialización de la grasa de animales de abasto. Ed. Acribia p 20 a 35, 78 a 85, 88 a 91.

Opstvedt Johannes (1985). Lípidos de Pescado en Nutrición animal. IAFMM. pp. 31.

Obach, A. and Baudin-Laurencin, F., 1992. Effects of dietary oxidized fish oil and deficiency of antioxidants on immune response of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture*, 107 (1992) 221-228.

*Oshima, T., Fujita, Y. y Koizumi, C., 1993. Oxidative stability of sardine and mackerel lipids with reference to synergism between phospholipids and alpha-tocopherol. *J.A.O.C.S.*, 70 (3): 269-276.

Papas, A.M., (sin año). Utilization of oil soluble antioxidants in foods. Eastman Chemical Company, P.O. Box 431, Kingsport TN 37662, USA (unpublished), 20pp..

*Pesquera San Pedro S.A. C.I. Manual de Harina de Pescado. 28 p.

*Pike H. I. (1990). The role of fish oil in feed for farmed fish. Estimated current and potential uses. IAFFM. Boletín técnico No.25

*Pigott George M. and Tucker Barbee W. (1990). Sesfood, Effects of Technology on Nutrition. Ed. Dekker, 66-84.

*Pike Ian and Hardy Ronald W. (1992). Shrimp feed ingredient quality standards.

Rosenberry, B. (1994). Shrimp New International, March/April 1994. Aquaculture Digest, San Diego. pp 19 a 20.

*Smith L. and et al. (1985). Growth and digestibility by three size of *Penaeus vannamei*. Effects of dietary protein source. Aquaculture, 46:85-96.

*Schmedes A. and Holmer G. (1989). A new thiobarbituric acid (TBA). Method for determining free malondialdehyde (MDA) and hidroperoxides selectively. JAOCS Vol 66 No. 6 813-817.

*Stansby Maurice E. (1990). Fish oils in nutrition. Ed. Van Nostrand Reinhold. pp. 305.

*Subramayan M. (1994). Ingredient quality in the production and performance of aquaculture feeds. Presented at Second International Symposium on Nutrition of Aquatic Organism. Organized by F.C.B./U.A.N.L. in Monterrey Nuevo León, México.

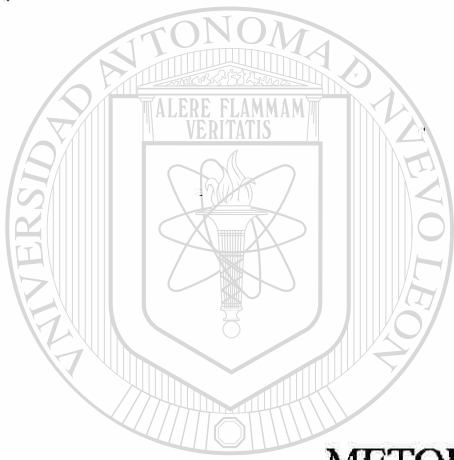
SEPESCA, (1987). Programa nacional de cultivo de camarón, Proyecto nacional y expresión estatal. Dirección general de acualcultura. Sept. 1987, pp. 105.

Tacon Albert G. J. (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Programa cooperativo gubernamental. Documento de campo No. 4. Proyecto Aquila II GCP/RLA/102 ITA. FAO-ITALIA. 32 a 50.

Windsor M. y Barlow S. (1984). Introducción a los subproductos de pesquería. Ed. Acribia pp5 a 97.

*Zendejas Jesús Hdz. (1994). Manejo del alimento de camarón. Camarón 94, seminario internacional de camaronicultura en México. Febrero 10, 11 y 12 de 1994. Mazatlán, Sinaloa, México. Ralston Purina Internacional. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



ANEXO I

METODO DEL OXIGENO ACTIVO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

METODO DE OXIGENO ACTIVO PARA COMPARAR LA ESTABILIDAD DE ACEITES Y GRASA (AOM A.O.C.S. Official Method Cd 12-57, 1989).

INTRODUCCION.

La estabilidad a la oxidación de aceites o grasas, depende de la habilidad a resistir la reacción del oxígeno atmosférico con los enlaces dobles de los ácidos grasos de la molécula de triglicérido, provocando la formación de peróxidos e hidroperóxidos. El avance de esta auto-oxidación puede ser evaluado al analizar el contenido de peróxidos en las grasas o aceites a intervalos regulares de tiempo. La finalización de este análisis se lleva a cabo cuando en la grasa o el aceite se nota la rancidez, en olor y sabor.

En este método de oxígeno activo (AOM), una muestra de grasa o aceite se expone a una temperatura constante de 97.8 °C y a un burbujeo de aire; se toma una pequeña porción de muestra y periódicamente se analiza el contenido de peróxido mediante una titulación iodométrica.

Los valores aceptados para el final de esta prueba son de 70 miliequivalentes por kilogramo; para aceites vegetales y de 20 miliequivalentes por kilogramo para grasa animal (puede ser también de 100 y 50 meq/kg, respectivamente).

EQUIPO

Una unidad AOM, consta de los siguiente:

- a) Sistema de distribución de aire con control de flujo (el aire deberá estar libre de compuestos oxidantes y de humedad).
- b) Tubos de aereación.
- c) Baño térmico con control de temperatura, se emplea aceite térmico (DOP), etilenglicol, etc.

Material de laboratorio de vidrio

- a) Matracas Erlenmeyer de 250 ml.
 - b) Pipetas 1.0 ml
 - c) Probetas de 50 ml
 - d) Vasos de precipitados de 30 y 250 ml
- Balanza analítica de 1 mg de sensibilidad.
Bureta de 10 ml, con divisiones de 0.5 ml

REACTIVOS

Solución indicadora de almidón, 1%
Solución saturada de yoduro de potasio
Mezcla de ácido acético-cloroformo, 3:2
Solución de tiosulfato de sodio valorada, 0.002N
Agua destilada

PROCEDIMIENTO

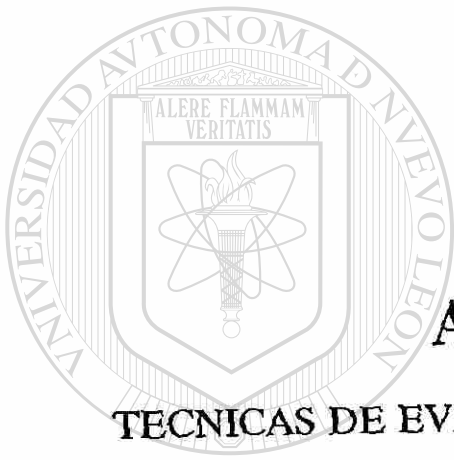
1. Colocar la muestra de aceite o grasa en el tubo de aereación, de 20 a 25 ml, marcando el tubo de acuerdo con la muestra que contiene (las grasas sólidas se pueden calentar a una temperatura 70 oC para lograr la completa, licuefacción).
2. Introducir la pipeta en los tubos y conectar el sistema de burbujeo de aire a cada tubo, así como colocar los tubos dentro del baño de aceite; dicho baño debe cubrir totalmente a la parte del tubo donde se encuentra la muestra. El flujo de aire debe de ser de aproximadamente 0.2 ó 0.3 ml/seg (presión de 10 psi aproximadamente).
3. Determinar el índice de peróxidos inicial de cada una de las muestras si se trata

de diferentes tipos de grasas o aceites, si se colocan varios tubos de una misma muestra, con analizar uno es suficiente.

4. El monitoreo de cada tubo se realiza a intervalos de tiempo regulares, por ejemplo para muestras sin antioxidantes se pueden tomar alícuotas cada 2 hr; para aceites o grasa con antioxidantes se puede muestrear cada 3 ó 4 hr, de acuerdo a como avance la oxidación.
5. El procedimiento de muestreo es como sigue:
 - a) Desconectar el flujo de aire de los tubos.
 - b) Con la pipeta del tubo de aereación se toma la muestra y se colocan 9 ó 10 gotas en un matraz Erlenmeyer, con lo que se obtendrá de 0.15 a 0.3 g de muestra.
 - c) Conectar de nuevo el flujo de aire a cada uno de los tubos de aereación.
6. Para determinar el índice de peróxidos, se siguen los pasos que se describen en el método correspondiente.
7. La oxidación acelerada se prosigue hasta un valor de 70 a 100 meq para aceites vegetales y de 20 meq a 50 meq para grasas animales.
8. En cada muestreo se anota la hora en que fué tomada la alícuota así como el resultado del análisis de peróxidos. Con estos datos se llena una tabla, la cual servirá para realizar una gráfica en la cual se tendrá el índice de peróxidos contra tiempo en horas.
9. De la gráfica se leerá las horas correspondientes a 70 meq, para aceites vegetales, y 20 meq, para grasas animales, y éstos valores se reportarán como el número de horas requeridas para oxidar dicho aceite o grasa (también se denominan horas AOM de estabilidad).

NOTAS ADICIONALES

1. Este método es aplicable a grasas y aceites que fundan a 97.8 °C pero no es aplicable a los productos que contengan dichas grasas.
2. Las causas más frecuentemente de error en este método puede ser:
 - a) Control inadecuado de la temperatura en el baño de aceite.
 - b) La mala limpieza del material (tubos de aereación, matraces, buretas, etc). El material debe estar perfectamente seco y limpio. Para ayudar en la limpieza de los tubos de aereación, se puede utilizar la misma solución de ácido acético-cloroformo.
 - c) La solución de ácido acético puede tener peróxidos, por lo que es necesario evaluar una prueba en blanco para medir el índice de peróxidos, es decir a un matraz sin muestra se le agregan todos los reactivos necesarios, si se nota una coloración azul se procede a titular con el tiosulfato, anotando el volumen gastado, el cual será registrado del volumen que se utilice en la titulación de un matraz que contenga muestra.
 - d) Insuficiente limpieza del aire usado en el burbujeo, o variaciones en el flujo empleado (control inadecuado). Para realizar la limpieza del aire es necesario colocar trampas con solución de dicromato de potasio y de agua destilada, antes de que el aire llegue a los tubos.
 - e) Descomposición de la solución de yoduro de potasio. Para evitar este problema es necesario mantenerla en refrigeración, guardar en un frasco ambar. Es preferible preparar solución para cada 2 ó 3 días, guardandola en refrigeración después de cada análisis.
 - f) La solución indicadora de almidón se debe guardar en un lugar fresco y se puede emplear durante dos días, llevandola a ebullición en el segundo día.
 - g) Solución de tiosulfato mal valorada o contaminada; ésta solución se debe valorar mínimo cada mes, guardandola en un lugar fresco.



ANEXO II

TECNICAS DE EVALUACION DE LA OXIDACION

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TECNICAS DE EVALUACION DE LA OXIDACION

VALOR PEROXIDO (IAFMM, 1981. Fish oil Bulletin No. 7 "Método de análisis recomendado para la determinación del valor peróxido en aceites de pescado").
Método oficial AOAC 965.33, 1990.

1. **General**
El método determina el valor peróxido de los lípidos en la muestra. Esto es muy empírico y cualquier variación en el procedimiento puede ocasionar variación en los resultados.
2. **Principio**
Todas las sustancias las cuales se oxidan con yoduro de potasio bajo las condiciones de la prueba son determinadas.
3. **Aparatos**
Pipeta Mohr; tipo de medición; 1 ml de capacidad.
Matraz Erlenmeyer; con tapón de vidrio; 250 ml.
4. **Reactivos**
Todos los reactivos deberán ser de calidad analítica.
Antioxidante BHT.
Acido acético-solución cloroformo (preparada mezclando tres partes de volumen de acido acético glacial con dos partes del volumen de cloroformo).
Solución yoduro de potasio, saturada. Almacenada a la obscuridad. Prueba diaria adicionando 2 gotas de solución de almidón a 0.5 ml de la solución yoduro de potasio en 30 ml de solución ácido acético-cloroformo. Si se forma una coloración azul y requiere más de 1 gota de 0.1 N de solución de tiosulfato de sodio, descarte la solución de yoduro de potasio y prepare un nuevo lote.
Solución de tiosulfato de sodio, aproximadamente 0.1 N, estandarizada.
Solución de tiosulfato de sodio, aproximadamente 0.01N, estandarizada. Esta solución deberá ser preparada diluyendo 10 veces la solución 0.1N con agua destilada recientemente hervida.
Solución indicadora de almidón, 1 g de almidón soluble en 100 ml de agua destilada.
5. **Método**
Pesar aproximadamente de 0.5 a 5.0 g de muestra y aproximadamente 0.03 g de BHT en un matraz Erlenmeyer con tapón de rosca de 250 ml y adicione 30 ml de la solución acético-cloroformica. Agite el matraz para que la muestra se disuelva. Adicionar 0.5 ml de solución de yoduro de potasio saturada utilizando la pipeta Mohr.
Todas las soluciones deberán ser almacenadas en la obscuridad con agitaciones ocasionales por 1 min y adicionar 30 ml de agua destilada.
Titular con tiosulfato de sodio 0.1N adicionandolo gradualmente y agitando vigorosamente hasta que desaparezca el color amarillo. Adicione aproximadamente 0.5 ml de solución indicadora de almidón y continúe la titulación, agite vigorosamente el matraz hasta el punto final y extraiga todo el yoduro de la capa cloroformica. Adicione el tiosulfato por goteo hasta que el color azul desaparezca (nota: si la titulación es menor de 0.5 ml repita la determinación utilizando 0.01N de la solución de tiosulfato de sodio).
Corra una determinación del blanco utilizando solamente los reactivos. La titulación del blanco no deberá exceder 0.1 ml de la solución de tiosulfato de sodio 0.1N.

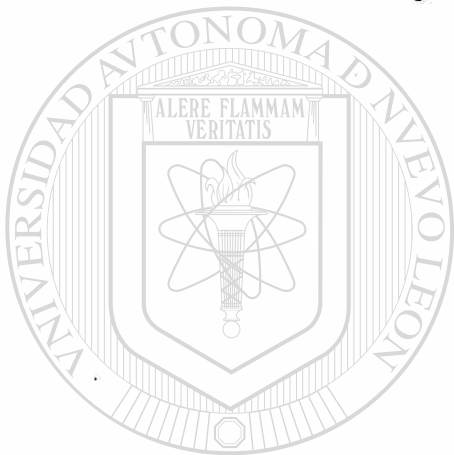
6. **Cálculos**
El valor peróxido, como miliequivalentes por 1000 gr de muestra.

$$V.P. = \frac{(S-B) (N) (1000)}{\text{peso de la muestra (g)}}$$

donde: B= Titulación del blanco
S= Titulación de la muestra
N= Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

7. **Repetitibilidad**
Las diferencias entre dos determinaciones corridas simultáneamente o en sucesiones rápidas por el mismo análisis no deberá exceder 2.0 miliequivalentes/kg.

V= Vol. de tiosulfato de sodio utilizados
N= Normalidad de tiosulfato de sodio
W= Peso de la muestra en g



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

VALOR ANISIDINA (IAFFM, 1981. Fish oil Bulletin No. 8 "Método de análisis recomendado para la determinación del valor anisidina en aceites de pescado").
List et al. 1974

1. Definición: el valor p-anisidina es definido convencionalmente como 100 veces la densidad óptica medida en una celda de 1 cm de una solución conteniendo 1.00 g de el aceite en 100 ml de una mezcla de solventes y reactivos de acuerdo al método descrito.
2. Principio: la reacción de una solución acética de compuestos aldehídicos en un aceite y el reactivo p-anisidina (nota 1), y la determinación de la absorbancia a 350 nm.
3. Aparatos:
 - 3.1 Tubos de prueba de 10 ml mínimo, con tapones de rosca.
 - 3.2 Frascos graduados de 25 ml.
 - 3.3 Pipeta ó bureta automática.
 - 3.4 Espectrofotómetro para observaciones a 350 nm.
 - 3.5 Celdas con 1(+ 0.01) cm, las 2 celdas de cada par deben ser idénticas.
4. Reactivos:
 - 4.1 Iso-octano (2,2,4-trimetilpentano), ópticamente claro (nota 2).
 - 4.2 Acido acético glacial, reactivo analítico (nota 3).
 - 4.3 p-Anisidina, reactivo analítico (nota 4) solución 2.5 g/l en ácido acético glacial (4.2) (nota 5).

5. Procedimiento.

La muestra debe estar perfectamente seca y limpia.
Pese de 0.5 A 4.0 g de la muestra, lo más cercano a 0.001 g, en un frasco volumétrico (3.2), disuelva y diluya a el volúmen con iso-octano (4.1).
Medir la absorbancia (Ab) de la solución a 350 nm en una celda (3.5) con el espectrofotómetro (3.4), utilice las celdas de referencia llenando sólo con solventes como blanco.
Pipetear exactamente 5 ml de la solución de grasa en un tubo de prueba (3.1) y exáctamente 5 ml de el solvente en un segundo tubo de prueba por medio de una pipeta automática (3.3) adicione exactamente 1 ml de el reactivo p-anisidina (4.3) a cada tubo, y agite.

Después de 10 min medir la absorbancia (As) de la solución en el primer tubo de prueba en una celda (3.5) a 350 nm, utilizando la solución del segundo tubo de prueba como blanco en las celdas de referencia.

- 6 Expresión de resultados.

El valor p-anisidina (V p-A) se determina con la siguiente fórmula:

$$V. p-A. = \frac{25 \times (1.2 A_s - A_b)}{m}$$

donde:

As es la absorbancia de la solución de grasa después de la reacción con el reactivo p-anisidina (4.3)

Ab es la absorbancia de la solución de grasa

m es la masa en g, de la porción de prueba.

- 7 Notas:

1 En la presencia de ácido acético, p-anisidina reacciona con compuestos aldehídicos en las grasas o aceites. La intensidad de color de los productos formados en la reacción amarilla depende no solamente de la cantidad de compuestos aldehídicos presentes sino también a su estructura. Se ha establecido que las dobles ligaduras de la cadena carbonada incrementan la absorvancia molar 4 o 5 veces. Los medios tales como alkenos, especialmente pudieran sustancialmente contribuir a los valores establecidos.

2 En algunos casos n-hexano puede ser substituido por iso-octano como solvente, sin embargo, para aceites teniendo altas cantidades de ácidos grasos oxidados puede no disolverse completamente en n-hexano. Para tales aceites el iso-octano puede ser utilizado como solvente.

La absorvancia del solvente utilizado (iso-octano ó n-hexano), medido en celdas de 1 cm entre 300 y 380 nm, debe ser de 0 ó cercano a cero. Los productos comerciales deben estar libres de cualquier material absorbente filtrado a través de una columna de vidrio (3-5 cm de diámetro interno, y 100 cm de longitud) lleno con sílica gel.

3 La reacción entre p-anisidina y los aldehidos involucra la formación de agua. Por lo tanto, la presencia de humedad, en cualquiera de los reactivos ó en la muestra lleva a la incompleta reacción y, consecuentemente, genera bajos valores.

Debido a que el ácido acético glacial es altamente higroscópico, es esencial chequear el contenido de humedad por la técnica de Karl Fischer. Si el contenido de humedad excede 0.1 %, el ácido acético debe ser descartado.

4 Debido al almacenamiento, p-anisidina tiende a oscurecerse como resultado de la oxidación. Un reactivo descolorante debe ser utilizado para reducir y descolorar de la siguiente manera: disuelva 40 g de p-anisidina en 1 l de agua a 75 °C. Adicione 2 g de sulfito de sodio y 20 g de carbón activo y remueva por 5 min. Filtre a través de un filtro de papel doble. Si el carbón pasa a través del papel, repita la filtración.

Enfríe la solución filtrada a 0 °C. Permitiendo dejarlo a ésta temperatura por lo menos 4 hr, ó preferiblemente, toda la noche, filtre los cristales de p-anisidina y lave con una pequeña cantidad de agua destilada a una temperatura aproximada a 0 °C.

Después de secar en un desecador al vacío, transfiera los cristales a un frasco ambar. Si el almacenamiento a baja temperatura y en la obscuridad, los cristales obtenidos pudieran no oscurecerse durante 1 año.

5 Los reactivos que tengan una absorvancia mayor a 0.200 nm cuando son medidos en celdas de 1.00 cm a 350 nm contra iso-octano ó n-hexano como blanco deben ser descartados.

NUMERO DE ACIDO TIOBARBITURICO

Yu, T. C.; Sinnhuber, R. O.; "An Improved 2-thiobarbituric acid (TBA) Procedure for the Measurement of Autoxidation in Fish Oils", JAOAC, Volume 44, No. 4, pp. 256-258, (1967).

Una porción de muestra es mezclada con antioxidante, se diluye con ácido clorhídrico, y solución básica de TBA y se digiere por 30 min en un block de calentamiento con temperatura constante con un refrigerante. Esta solución es diluida a el volumen con ácido tricloroacético (TCA)/sol. ácido clorhídrico, y se digiere con 10 minutos adicionales. El ácido tiobarbitúrico reacciona con el malonaldehído, formando un complejo coloreado. Las proteínas son removidas de la solución por precipitación con TCA, y la grasa es removida de la solución por agitación con una porción de cloroformo. La solución coloreada es filtrada y medida en un espectrofotómetro. El número de TBA, mg de malonaldehído por kg de muestra, es calculado del factor de conversión basado en el coeficiente de extinción del complejo coloreado y el peso molecular del malonaldehído.

INTERFERENCIAS:

Coloración amarilla, debido al contenido de grasa, tal vez extrayendola e interfiere por adición a la coloración medida para cuantificar el TBA.

BAJOS NIVELES DE CONFIANZA:

Utilizando 1 g de muestra, los bajos niveles de confianza de este método son 0.1 mg de malonaldehído/kg de muestra (número de TBA). Estos bajos niveles de confianza quizá pueden con la muestra matriz.

CONTROL DE CALIDAD

1. Un control de replicado de muestras como alineamiento en QAP III, "Control de Calidad Analítica", deberá ser incluido en todos los análisis llevados a cabo, y evaluar y almacenar como alineamiento en DOPIN 1000, "Control de Calidad de las Muestras/Reporte de Resultados".
2. Un blanco deberá ser incluido en cualquier análisis llevado a cabo. Este es utilizado como "cero" en el espectrofotómetro.
3. Asegúrese de tomar la muestra pesada y colocarla directamente en el fondo de los tubos, evitando que la muestra este en las paredes de los tubos y no pueda ser digerida, dando resultados erróneos.
4. Aunque la mezcla de antioxidante quizá no sea necesaria para todas las muestras, esta deberá ser utilizada en todas las muestras como medida de seguridad.
5. No caliente la muestra por más tiempo del indicado en el procedimiento, paso 7, un excesivo calentamiento de la muestra puede causar una oxidación adicional, resultando en resultados analíticos altos.
6. Si la muestra es turbia después de la centrifugación, la turbidez debe ser corregida tomando la lectura de la absorbancia a 600 nm y restando a ésta la lectura a 532 nm.

APARATOS

1. Balanza analítica; con rango de + 0.001 g.

2. Block de calentamiento; para calentar los tubos de prueba, capaces de mantener una temperatura de $100\text{ }^{\circ}\text{C} + 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y equipados con un condensador dedal. Producto científico, ó equivalente.
3. Espectrofotómetro; capaz de tomar lecturas desde 600 nm y 532 nm.
4. Papel filtro, GF/A, 12.5 cm.
5. Embudo, que se separe, de polipropeno, 6.5 cm de diámetro superior.
6. Matraces, Erlenmeyer, 125 ml
7. Buretas, graduadas, 50 ml
8. Pipetas, serológicas, 1 ml, 5 ml
9. Tubos, pyrex, 2.5 cm x 30.5 cm
10. Cronometro
11. Tapones de goma, sólidos, #44
12. Centrifuga: capaz de mantener rpms por arriba de 4000
13. Matraces, volumetricos de diferentes tamaños.
14. Parafilm
15. Tubos para centrifuga; para una capacidad mayor de 10 ml, apropiados para centrifuga.
16. Celdas para espectrofotómetro de 1 cm

REACTIVOS

1. Acido 2-tiobarbitúrico ($\text{NHCSNHCOCH}_2\text{CO}$), grado ACS (TBA) de sigma, ó equivalente.
2. Hidróxido de sodio (NaOH), solución 0.2N, certificada
3. Acido clorhidrico (HCl), concentrado, grado ACS
4. Acido tricloroacético (CCl_3COOH), (TCA) grado ACS certificado.
5. Trihidroxibutirofenona ($(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), grado reactivo
6. Propilenglicol ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$), grado laboratorio
7. Tenox VI; Eastman, ó equivalente
8. Cloroformo (CHCl_3), grado reactivo
9. HCl 0.6N: Diluya 50 a 52 ml de HCl concentrado a 1 L de agua destilada. Tape y mezcle muy bien.
10. Acido tricloroacético 20%: Disuelva 20.0 g de TCA en suficiente agua destilada para hacer una solución de 100 ml. Tape y mezcle muy bien. (ácido tricloroacético al 20% puede ser obtenido comercialmente).
11. Solución HCl-TCA: Mezcle 20 ml de ácido tricloroacético al 20 % y 90 ml de HCl 0.6N con 105 ml de agua destilada. Tape y mezcle muy bien. Prepárelo cada vez que realice un análisis.
12. Mezcla de antioxidante: Disuelva 1 g de Trihidroxibutirofenona en 18 g de propilen glicol. Adicione 1 g de Tenox VI, tape, y mezcle perfectamente.

PROCEDIMIENTO:

1. Pese 1.000 g de muestra en el fondo de un tubo Pyrex.
2. Adicione 5 gotas de mezcla de antioxidante directamente a la muestra.
3. Adicione 1 ml de HCl 0.6N a la muestra.
4. Mezcle el contenido con una agitación manual suave por aproximadamente 15 seg, teniendo cuidado de no llevar la muestra hacia los lados del tubo.
5. Adicione 5 ml de la solución de TBA a la muestra mezclada.
6. Sin agitar, coloque el tubo en un block de calentamiento, precalentado a una temperatura de $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ e inmediatamente coloque el condensador dedal.
7. Caliente la solución por exactamente 30 min.
8. Adicione 44 ml de solución HCl-TCA y caliente por otros 10 min adicionales.
9. Retire el tubo del block de calentamiento y lleve a temperatura ambiente.

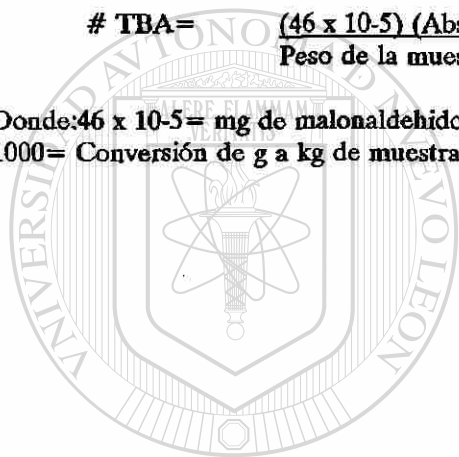
10. Tape el tubo con un tapón de goma e inviertalo una vez para mezclarlo.
11. Adicione 5 ml de cloroformo a la solución, tape, e invierta una vez, para remover el aceite residual.
12. Filtre la solución con papel filtro GF/A a un matraz Erlenmeyer de 125 ml.
12.1 Si el filtrado aparece turbio, transfiera a tubos de centrifuga y centrifuge por lo menos 5 min a una velocidad de 4000 rpm.
13. Transfiera una porción del filtrado claro a la celda de 1 cm de diametro del espectrofotómetro.
14. Mida la absorvancia de la solución en un espectrofotometro a 532 nm.
15. Mida la absorvancia de la solución en un espectrofotometro a 600 nm.
16. Reste la lectura de absorvancia a 600 de la lectura de absorvancia a 532 para obtener la lectura corregida generada por la turbidez.

CALCULOS

$$\# \text{ TBA} = \frac{\text{mg malonaldehido}}{\text{kg de muestra}}$$

$$\# \text{ TBA} = \frac{(46 \times 10^{-5}) (\text{Absorvancia de la muestra}) (50 \text{ ml}) (1000)}{\text{Peso de la muestra en g}}$$

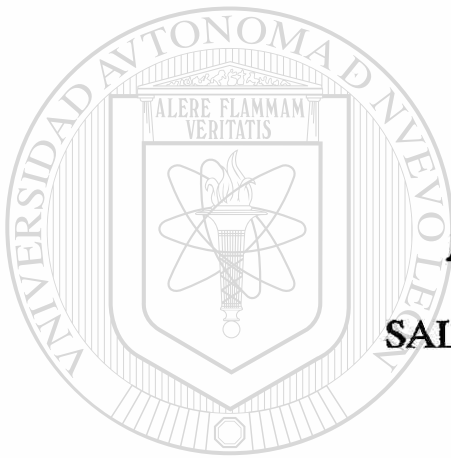
Donde: 46×10^{-5} = mg de malonaldehido que da 1.00 de absorvancia leyendo en ml
 1000 = Conversión de g a kg de muestra.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



ANEXO III
SALA DE BIOENSAYOS

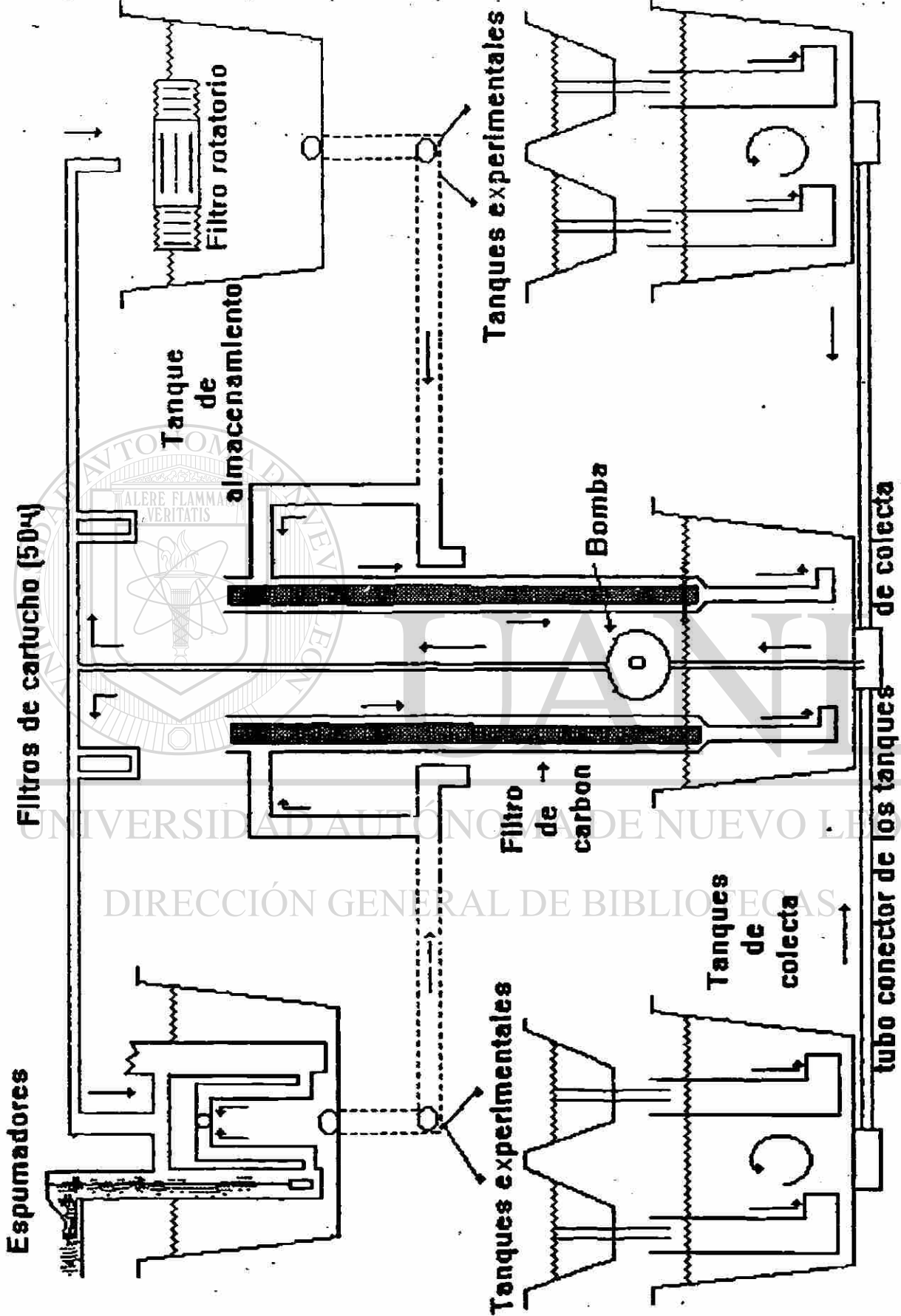
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

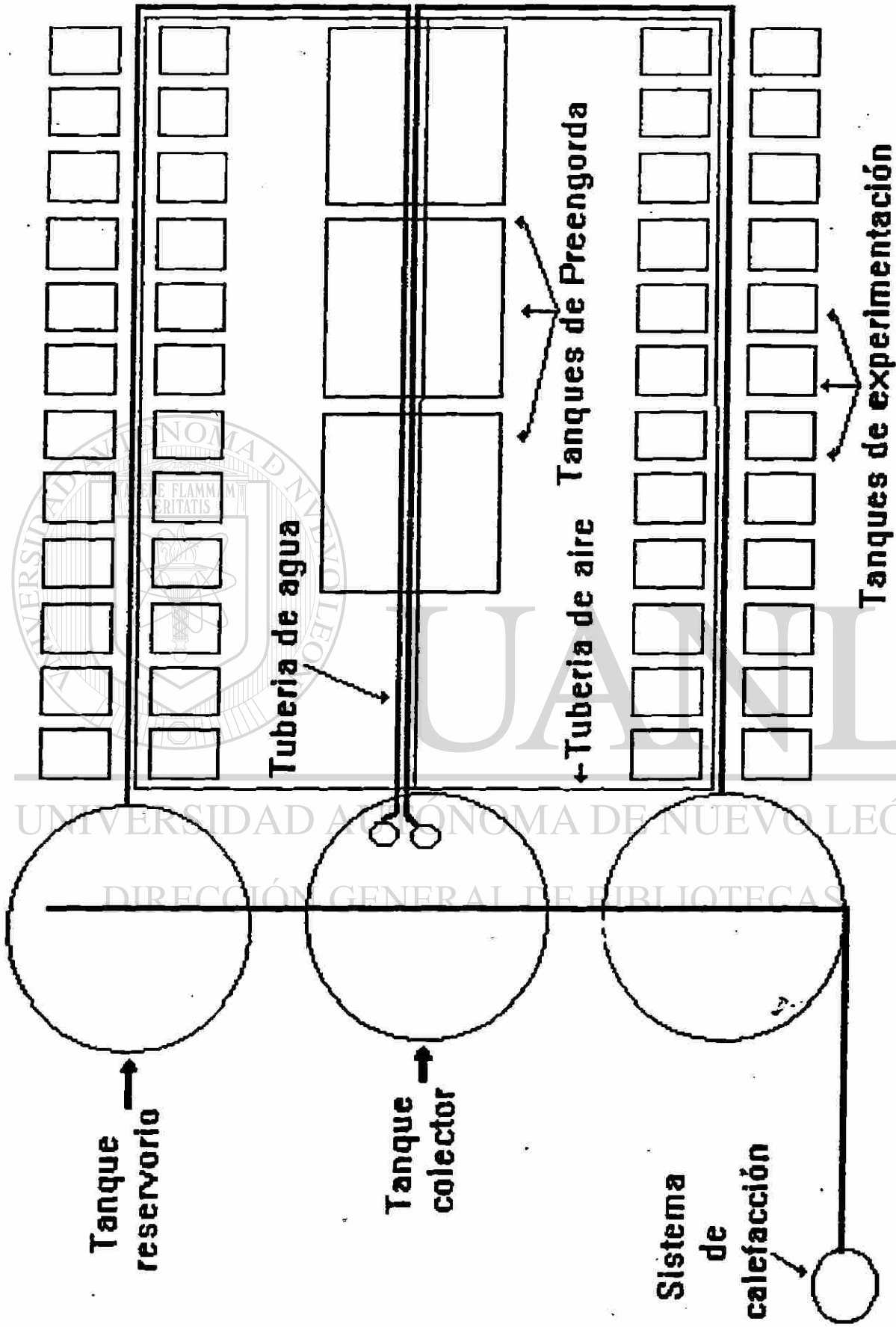
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

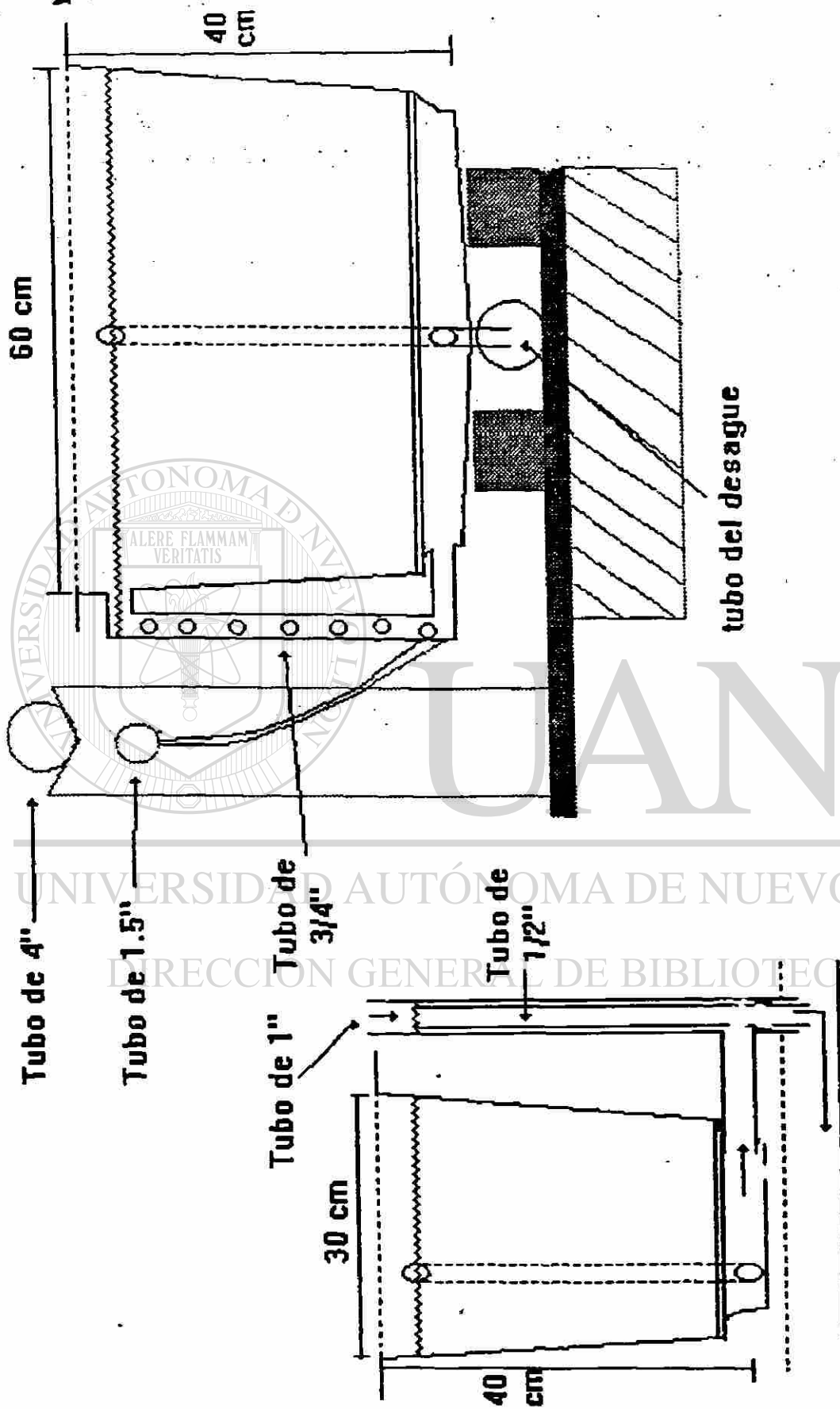
SYNTHETIC SEA WATER RECIRCULATING SYSTEM



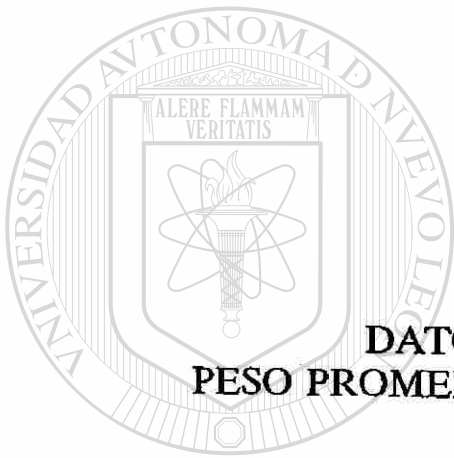
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
WALERE FLAMMA
VERITATIS



GENERAL TOP VIEW OF THE SHRIMP BIOASSAY HALL



60 LITRE TANK FOR SHRIMP NUTRITIONAL BIOASSAYS



ANEXO IV

**DATOS EN ARCHIVO SPSS:
PESO PROMEDIO Y TASA DE CRECIMIENTO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

<active file>

40	AQUA	TRAT	XWO	XW14	XW28	XW42	XW56	VP	VITE	ETQ
1	3	1	0.2480	0.4034	0.5392	0.6917	.	1	1	2
2	6	1	0.2487	0.4002	0.5033	.	.	1	1	2
3	16	1	0.2318	0.3816	0.5003	0.6530	.	1	1	2
4	32	1	0.2523	0.4027	0.5685	0.7270	.	1	1	2
5	38	1	0.2476	0.3968	0.4988	0.5845	.	1	1	2
6	9	2	0.2591	0.4094	0.5307	0.7425	0.8670	1	2	2
7	22	2	0.2484	0.4162	0.5554	0.6448	0.7602	1	2	2
8	24	2	0.2605	0.4404	0.6373	0.8146	0.9707	1	2	2
9	28	2	0.2359	0.4139	0.5425	0.6737	0.9568	1	2	2
10	37	2	0.2592	0.4456	0.5287	0.5314	0.6020	1	2	2
11	2	3	0.2472	0.3705	0.5054	0.6101	0.6320	2	1	2
12	11	3	0.2548	0.4140	0.5493	0.7213	0.8932	2	1	2
13	17	3	0.2598	0.4466	0.5997	0.7228	0.9182	2	1	2
14	27	3	0.2513	0.3972	0.5742	0.6672	.	2	1	2
15	34	3	0.2574	0.3924	0.5239	0.6689	0.6773	2	1	2
16	5	4	0.2527	0.4047	0.5387	0.6813	0.8285	2	2	2
17	7	4	0.2493	0.4176	0.5396	0.6642	0.8405	2	2	2
18	12	4	0.2504	0.4152	0.5551	0.6233	0.7061	2	2	2
19	29	4	0.2569	0.4338	0.5921	0.7159	0.8960	2	2	2
20	35	4	0.2504	0.4274	0.5605	0.6618	0.7654	2	2	2

Enter/Edit Data

Caps

<active file>

40	AQUA	TRAT	XWO	XW14	XW28	XW42	XW56	VP	VITE	ETQ
21	1	5	0.2492	0.3608	0.4913	.	.	3	1	1
22	8	5	0.2514	0.4061	0.4859	0.5196	.	3	1	1
23	10	5	0.2569	0.3968	0.4871	0.6259	.	3	1	1
24	30	5	0.2550	0.4252	0.5930	.	.	3	1	1
25	36	5	0.2287	0.3562	0.4807	0.5683	.	3	1	1
26	15	6	0.2530	0.4025	0.4844	0.5468	0.6805	3	1	2
27	19	6	0.2354	0.3779	0.4797	0.5962	.	3	1	2
28	20	6	0.2329	0.3718	0.4989	0.6091	0.7275	3	1	2
29	25	6	0.2521	0.4120	0.5079	0.5471	.	3	1	2
30	40	6	0.2601	0.4051	0.5099	0.5674	0.6752	3	1	2
31	13	7	0.2530	0.4247	0.5249	0.5556	0.6818	3	2	1
32	14	7	0.2585	0.4148	0.5350	.	.	3	2	1
33	18	7	0.2294	0.3747	0.4750	0.5819	0.6254	3	2	1
34	26	7	0.2603	0.3776	0.4604	0.5224	0.5368	3	2	1
35	39	7	0.2559	0.4151	0.5162	0.5982	0.6150	3	2	1
36	4	8	0.2428	0.3965	0.5066	0.6342	0.8150	3	2	2
37	21	8	0.2466	0.3992	0.5004	0.6260	0.7644	3	2	2
38	23	8	0.2588	0.4528	0.5706	0.7109	0.8732	3	2	2
39	31	8	0.2522	0.3929	0.4925	0.5617	0.7086	3	2	2
40	33	8	0.2521	0.3669	0.4708	0.5144	0.5839	3	2	2

Enter/Edit Data

Caps

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

<active file>

40	QUA	TRAT	TCA014	TCA028	TCA042	CON14	CON1428	CON2842	CON4256	VP	VITE	ETQ
1	3	1	0.6219	0.8979	.	0.2860	0.3359	0.2760	.	1	1	2
2	6	1	0.5623	.	.	0.2920	0.2703	.	.	1	1	2
3	16	1	0.5410	0.5980	.	0.2670	0.2740	0.0570	.	1	1	2
4	32	1	0.7085	0.8672	.	0.2990	0.4095	0.1587	.	1	1	2
5	38	1	0.5898	0.8658	.	0.2704	0.3194	0.2760	.	1	1	2
6	9	2	0.5460	0.8466	1.1612	0.2820	0.2640	0.3006	0.3146	1	2	2
7	22	2	0.4322	0.5076	0.6390	0.2705	0.1617	0.0754	0.1314	1	2	2
8	24	2	0.4877	0.7337	0.9352	0.2920	0.1957	0.2460	0.2015	1	2	2
9	28	2	0.5955	0.7641	1.2433	0.2707	0.3248	0.1686	0.4792	1	2	2
10	37	2	0.5350	0.6807	0.7954	0.3079	0.2271	0.1457	0.1147	1	2	2
11	2	3	0.4457	0.5496	0.6842	0.2370	0.2087	0.1039	0.1346	2	1	2
12	11	3	0.4890	0.6715	0.8121	0.2760	0.2130	0.1825	0.1406	2	1	2
13	17	3	0.6013	0.7970	0.9412	0.2960	0.3053	0.1957	0.1442	2	1	2
14	27	3	0.5957	0.7620	.	0.2642	0.3315	0.1655	.	2	1	2
15	34	3	0.5661	0.6876	0.8272	0.2902	0.2759	0.1215	0.1396	2	1	2
16	5	4	0.6238	0.9422	1.3929	0.2750	0.3488	0.3184	0.4507	2	2	2
17	7	4	0.5534	0.7374	0.9206	0.2910	0.2624	0.1840	0.1832	2	2	2
18	12	4	0.4962	0.5737	0.6833	0.2780	0.2182	0.0775	0.1069	2	2	2
19	29	4	0.6556	0.7312	0.9770	0.3000	0.3556	0.0756	0.2458	2	2	2
20	35	4	0.5395	0.6117	0.7756	0.2923	0.2472	0.0722	0.1639	2	2	2

Enter/Edit Data

Num Caps

<active file>

40	QUA	TRAT	TCA014	TCA028	TCA042	CON14	CON1428	CON2842	CON4256	VP	VITE	ETQ
21	1	5	0.5550	.	.	0.2590	0.2960	.	.	3	1	1
22	8	5	0.4274	0.5550	.	0.2680	0.1594	0.1276	.	3	1	1
23	10	5	0.5737	0.7829	.	0.2810	0.2927	0.2092	.	3	1	1
24	30	5	0.5104	.	.	0.2960	0.2144	.	.	3	1	1
25	36	5	0.4385	0.5853	.	0.2464	0.1921	0.1468	.	3	1	1
26	15	6	0.4153	0.5314	0.9152	0.2470	0.1683	0.1161	0.3838	3	1	2
27	19	6	0.5211	0.6237	.	0.2690	0.2521	0.1026	.	3	1	2
28	20	6	0.4380	0.5790	0.7324	0.2463	0.1917	0.1410	0.1534	3	1	2
29	25	6	0.4391	0.5385	.	0.2915	0.1476	0.0994	.	3	1	2
30	40	6	0.4911	0.6165	0.7300	0.2800	0.2111	0.1254	0.1135	3	1	2
31	13	7	0.4596	0.5727	0.7987	0.2210	0.2386	0.1131	0.2260	3	2	1
32	14	7	0.4312	.	.	0.2640	0.1672	.	.	3	2	1
33	18	7	0.4290	0.5315	0.6554	0.2156	0.2134	0.1026	0.1239	3	2	1
34	26	7	0.4520	0.5651	0.7489	0.2705	0.1815	0.1131	0.1838	3	2	1
35	39	7	0.4952	0.5822	0.6873	0.2758	0.2194	0.0870	0.1051	3	2	1
36	4	8	0.5178	0.7716	1.1339	0.2460	0.2718	0.2538	0.3623	3	2	2
37	21	8	0.5606	0.7966	1.2445	0.2920	0.2686	0.2360	0.4479	3	2	2
38	23	8	0.4544	0.5747	0.9817	0.2830	0.1715	0.1203	0.4070	3	2	2
39	31	8	0.4741	0.6348	0.7980	0.2680	0.2061	0.1607	0.1632	3	2	2
40	33	8	0.4660	0.5616	0.6541	0.2540	0.2120	0.0956	0.0925	3	2	2

Enter/Edit Data

Num Caps

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



ANEXO V

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO: TASA DE CRECIMIENTO
GRUPOS ANALIZADOS 1, 2, 3, 4, 6 y 8.
ANOVA: TWO-WAY Y ONEWAY**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SELECT IF (TRAT NE 5).
 SELECT IF (TRAT NE 7).
 ANOVA /VARIABLES TC014 BY VP (1,3) VITE (1,2) /STATISTICS ALL.
 *** CELL MEANS ***

TC014 CRECIMIENTO14
 BY VP VALORPEROXIDO
 VITE VITAMINAE

TOTAL POPULATION
 62.29
 (30)

VP
 1 2 3
 65.01 63.12 58.74
 (10) (10) (10)

VITE
 1 2
 60.31 64.26
 (15) (15)

VP	VITE	
	1	2
1	61.61 (5)	68.40 (5)
2	59.63 (5)	66.60 (5)
3	59.69 (5)	57.78 (5)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***
 TC014 CRECIMIENTO14
 BY VP VALORPEROXIDO
 VITE VITAMINAE

UANL

Source of Variation	Squares	Sum of DF	Mean Square	F	Signif of F
Main Effects	324.039	3	108.013	2.163	.119
VP206	.917	2	103.459	2.072	.148
VITE	117.121	1	117.121	2.345	.139
2-way Interactions	128.651	2	64.325	1.288	.294
VP VITE	128.651	2	64.325	1.288	.294
Explained	452.690	5	90.538	1.813	.148
Residual	1198.605	24	49.942		
Total	1651.294	29	56.941		

ANOVA /VARIABLES TC028 BY VP (1,3) VITE (1,2) /STATISTICS ALL.
 *** CELL MEANS ***

TC028 CRECIMIENTO28
 BY VP VALORPEROXIDO
 VITE VITAMINAE

TOTAL POPULATION

112.78
(30)

VP

1 2 3

116.94 119.30 102.10
(10) (10) (10)

VITE

1 2

110.45 115.11
(15) (15)

VITE

1 2

VP

1 112.48 121.40
(5) (5)

2 117.48 121.13
(5) (5)

3 101.39 102.82
(5) (5)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

TC028 CRECIMIENTO28
BY VP VALORPEROXIDO
VITE VITAMINAE

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F of	Signif F
Main Effects	1901.560	3	633.853	4.263	.015
VP	1738.564	2	869.282	5.846	.009
VITE	162.996	1	162.996	1.096	.306
2-way Interactions	74.142	2	37.071	.249	.781
VP VITE	74.142	2	37.071	.249	.781
Explained	1975.702	5	395.140	2.657	.048
Residual	3568.678	24	148.695		
Total	5544.380	29	191.186		

ANOVA /VARIABLES TC042 BY VP (1,3) VITE (1,2) /STATISTICS ALL
*** CELL MEANS ***

TC042 CRECIMIENTO42
BY VP VALORPEROXIDO
VITE VITAMINAE

TOTAL POPULATION

157.34
(29)

VP

1 2 3
168.59 166.30 138.26

(9) (10) (10)

VITE

1 2
155.29 159.26
(14) (15)

VITE

VP
1 171.21 166.50
(4) (5)
2 164.62 167.98
(5) (5)
3 133.22 143.30
(5) (5)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

TC042 CRECIMIENTO42

BY VP VALORPEROXIDO

VITE VITAMINAE

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F of	Signif F
Main Effects					
VP	5657.420	3	1885.807	2.881	.058
VITE	5543.155	2	2771.578	4.234	.027
	74.143	1	74.143	.113	.740
2-way Interactions					
VP VITE	257.532	2	128.766	.197	.823
	257.532	2	128.766	.197	.823
Explained	5914.952	5	1182.990	1.807	.151
Residual	15057.092	23	654.656		
Total	20972.044	28	749.002		

ANOVA /VARIABLES TC056 BY VP (1,3) VITE (1,2) /STATISTICS ALL

*** CELL MEANS ***

TC056 CRECIMIENTO

BY VP VALORPEROXIDO

VITE VITAMINAE

TOTAL POPULATION

209.89
(22)

VP

1 2 3
230.23 214.42 192.08
(5) (9) (8)

VITE

1 2
195.82 216.45
(7) (15)

VITE		1	2
VP	1	.00	230.23
		(0)	(5)
	2	207.43	220.01
		(4)	(5)
	3	180.35	199.13
		(3)	(5)

*** ANALYSIS OF VARIANCE ***

TC056 CRECIMIENTO
 BY VP VALORPEROXIDO
 VITE VITAMINAE

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	Signif F of	F
Main Effects	5762.667	3	1920.889	.833	.494
VP	3730.944	2	1865.472	.809	.462
VITE	973.919	1	973.919	.423	.524
2-way Interactions	38.989	1	38.989	.017	.898
VP VITE	38.989	1	38.989	.017	.898
Explained	5801.656	4	1450.414	.629	.648
Residual	39187.067	17	2305.122		
Total	44988.723	21	2142.320		

ONEWAY /VARIABLES TC014 BY TRAT (1,8) /RANGES DUNCAN /STATISTICS ALL.

Variable TC014 CRECIMIENTO14
 Variable TRAT TRATAMIENTO

Analysis of Variance

Source	D.F.	Squares	Sum of Squares	Mean	F Ratio	F Prob.
Between Groups	5	452.6897	90.5379		1.8129	.1483
Within Groups	24	1198.6047	49.9419			
Total	29	1651.2944				

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean
Grp1	5	61.6145	2.0307	.9081	59.0931 To 64.1358
Grp2	5	68.3979	6.5434	2.9263	60.2733 To 76.5225
Grp 3	5	59.6278	10.0253	4.4835	47.1799 To 72.0757
Grp 4	5	66.6040	4.0265	1.8007	61.6046 To 71.6035
Grp 6	5	59.6881	2.7652	1.2366	56.2547 To 63.1214
Grp 8	5	57.7836	11.3289	5.0665	43.7171 To 71.8502
Total	30	62.2860	7.5459	1.3777	59.4683 To 65.1037

Fixed Effects Model 7.0670 1.2902 59.6231 To 64.9489
 Random Effects Model 1.7372 57.8204 To 66.7516
 Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance 8.1192

Group	Minimum	Maximum
Grp 1	59.6115	64.6246
Grp 2	58.0084	75.4557
Grp 3	49.8786	75.2747
Grp 4	60.1503	70.6869

Grp 6	55.7477	63.4272
Grp 8	45.5374	74.9613
Total	45.5374	75.4557

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variances) = .4283, P = .118 (Approx.)
 Bartlett-Box F = 2.960, P = .012
 Maximum Variance / Minimum Variance 31.125

Multiple Range Test

Duncan Procedure

Ranges for the .050 level -

2.92 3.06 3.17 3.23 3.28

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is-

4.9971 * Range * Sqrt(1/N(I) + 1/N(J))

(*) Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

G G G G G
r r r r r
P P P P P

Mean	Group	8	3	6	1	4	2
57.7836	Grp 8						
59.6278	Grp 3						
59.6881	Grp 6						
61.6145	Grp 1						
66.6040	Grp 4						
68.3979	Grp 2						*

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

SUBSET 1

Group	Grp 8	Grp 3	Grp 6	Grp 1	Grp 4
Mean	57.7836	59.6278	59.6881	61.6145	66.6040

SUBSET 2

Group	Grp 3	Grp 6	Grp 1	Grp 4	Grp 2
Mean	59.6278	59.6881	61.6145	66.6040	68.3979

=====

ONEWAY /VARIABLES TC028 BY TRAT (1,8) /RANGES DUNCAN /STATISTICS ALL

Variable TC028 CRECIMIENTO28
 By Variable TRAT TRATAMIENTO

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	5	1975.7015	395.1403	2.6574	.0476
Within Groups	24	3568.6783	148.6949		
Total	29	5544.3798			

Group	Count	Standard Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	5	112.4810	10.3007	4.6066	99.6912 To 125.2708
Grp 2	5	121.4008	17.2989	7.7363	99.9218 To 142.8799

Grp 3	5	117.4837	14.2200	6.3594	99.8275	To	135.1400
Grp 4	5	121.1259	6.7127	3.0020	112.7911	To	129.4607
Grp 6	5	101.3925	8.6213	3.8556	90.6879	To	112.0971
Grp 8	5	102.8161	12.8537	5.7483	86.8564	To	118.7758
Total	30	112.7833	13.8270	2.5245	107.6203	To	117.9464

Fixed Effects Model 12.1941 2.2263 108.1884 To 117.3782
 Random Effects Model 3.6292 103.4542 To 122.1124

Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance 49.2891

Group	Minimum	Maximum
Grp 1	101.4539	125.3269
Grp 2	103.9737	144.6449
Grp 3	103.5353	135.3610
Grp 4	113.1776	130.4787
Grp 6	91.4624	114.2121
Grp 8	86.7512	120.4791
Total	86.7512	144.6449

Variable TC028 CRECIMIENTO28
 By Variable TRAT TRATAMIENTO

Multiple Range Test
 Duncan Procedure

Ranges for the .050 level -
 2.92 3.06 3.17 3.23 3.28

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$$8.6225 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$$

(*) Denotes pairs of groups significantly different at the .050 level

G G G G G
 r r r r r
 p p p p p

Mean Group 6 8 1 3 4 2

101.3925	Grp 6
102.8161	Grp 8
112.4810	Grp 1
117.4837	Grp 3
121.1259	Grp 4 **
121.4008	Grp 2 **

Homogeneous Subsets (Subsets of groups, whose highest and lowest means do not differ by more than the shortest significant range for a subset of that size)

SUBSET 1

Group	Grp 6	Grp 8	Grp 1	Grp 3
Mean	101.3925	102.8161	112.4810	117.4837

SUBSET 2

Group	Grp 1	Grp 3	Grp 4	Grp 2
Mean	112.4810	117.4837	121.1259	121.4008

ONEWAY /VARIABLES TC042 BY TRAT (1,8) /RANGES DUNCAN /STATISTICS ALL.

Variable TC042 CRECIMIENTO42
By Variable TRAT TRATAMIENTO

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	5	5914.9520	1182.9904	1.8070	.1512
Within Groups	23	15057.0923	654.6562		
Total	28	20972.0443			

Standard Standard

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	4	171.2089	23.7455	11.8728	133.4250 To 208.9928
Grp 2	5	166.5005	39.9078	17.8473	116.9492 To 216.0518
Grp 3	5	164.6235	19.0068	8.5001	141.0238 To 188.2232
Grp 4	5	167.9805	6.7633	3.0246	159.5829 To 176.3781
Grp 6	5	133.2179	22.2786	9.9633	105.5559 To 160.8800
Grp 8	5	143.3023	29.0760	13.0032	107.2003 To 179.4043
Total	29	157.3434	27.3679	5.0821	146.9332 To 167.7536

Fixed Effects Model 25.5862 4.7512 147.5147 To 167.1721

Random Effects Model 6.3971 140.8994 To 173.7875

Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance 109.4407

Group	Minimum	Maximum
Grp 1	136.0662	188.1490
Grp 2	105.0154	212.7063
Grp 3	144.0559	183.6734
Grp 4	160.9025	178.6687
Grp 6	116.1264	161.5285
Grp 8	104.0460	174.6908
Total	104.0460	212.7063

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variations) = .4078, P = .162 (Approx.)

Bartlett-Box F = 1.825, P = .106

Maximum Variance / Minimum Variance 34.818

Variable TC042 CRECIMIENTO42

By Variable TRAT TRATAMIENTO

Multiple Range Test

Duncan Procedure

Ranges for the .050 level -

2.92 3.07 3.17 3.23 3.28

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..

$18.0922 * \text{Range} * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$

No two groups are significantly different at the .050 level

ONEWAY /VARIABLES TC056 BY TRAT (1,8) /RANGES DUNCAN /STATISTICS ALL.

Variable TC056 CRECIMIENTO
By Variable TRAT TRATAMIENTO

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	4	5801.6564	1450.4141	.6292	.6483
Within Groups	17	39187.0669	2305.1216		
Total	21	44988.7233			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean	
Grp 2	5	230.2273	66.4862	29.7335	147.6751	To 312.7795
Grp 3	4	207.4263	55.6870	27.8435	118.8171	To 296.0354
Grp 4	5	220.0103	26.5233	11.8616	187.0778	To 252.9428
Grp 6	3	180.3497	28.1306	16.2412	110.4687	To 250.2307
Grp 8	5	199.1256	44.1749	19.7556	144.2761	To 253.9751
Total	22	209.8896	46.2852	9.8680	189.3678	To 230.4113

Fixed Effects Model 48.0117 10.2361 188.2932 To 231.4859
 Random Effects Model 10.2361 181.4700 To 238.3091

WARNING - Between component variance is negative
 it was replaced by 0.0 in computing above random effects measures
 Random Effects Model - Estimate of Between Component Variance -195.8705

Group	Minimum	Maximum
Grp 2	132.2530	305.5955
Grp 3	155.6634	260.3610
Grp 4	181.9888	248.7738
Grp 6	159.5924	212.3658
Grp 8	131.6144	237.4034
Total	131.6144	305.5955

Tests for Homogeneity of Variances

Cochrans C = Max. Variance/Sum(Variances) = .4030, P = .462 (Approx.)
 Bartlett-Box F = .900, P = .464
 Maximum Variance / Minimum Variance 6.284

Multiple Range Test
 Duncan Procedure

Ranges for the .050 level -
 2.98 3.13 3.23 3.29

The ranges above are table ranges.

The value actually compared with Mean(J)-Mean(I) is..
 $33.9494 * \text{Range} * \text{Sqrt}(1/N(I) + 1/N(J))$

No two groups are significantly different at the .050 level

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



QUANT

