

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



**"ANÁLISIS DE LA TRANSFORMACION DE LA PLUMA CRUDA
COMO FUENTE DE PROTEINA PARA *Penaeus vannamei*."**

TESIS

Para Obtener el Grado de Maestro en Ciencias con Especialidad en
Recursos Alimenticios y Producción Acuícola

PRESENTA

ANTONIO DE DIOS URTEAGA

IV
6H380
05
111



1080073226

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**"ANÁLISIS DE LA TRANSFORMACION DE LA PLUMA CRUDA
COMO FUENTE DE PROTEINA PARA *Penaeus vannamei*".**

TESIS

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

PRESENTA

ANTONIO DE DIOS URTEAGA

TM
SH 380
DS

Biblioteca Central Magna
UANL
FONDO
TESIS
(73226)

Biblioteca Central Magna
UANL
FONDO
TESIS MAESTRIA

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**"ANÁLISIS DE LA TRANSFORMACION DE LA PLUMA CRUDA COMO FUENTE DE
PROTEINA PARA *Penaeus vannamei*".**

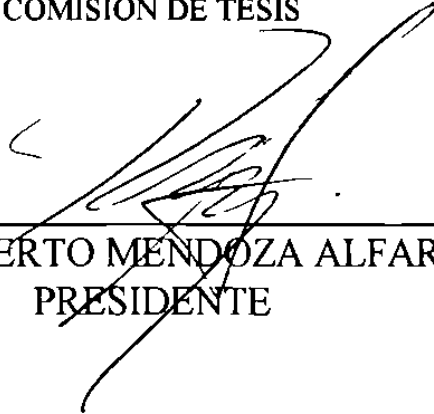
TESIS

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

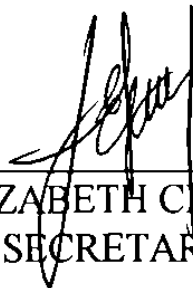
PRESENTA

ANTONIO DE DIOS URTEAGA


COMISION DE TESIS



**DR. ROBERTO MENDOZA ALFARO
PRESIDENTE**



**DRA. ELIZABETH CRUZ SUAREZ
SECRETARIO**



**DR. DENIS RICQUE MARIE
VOCAL**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

"ANÁLISIS DE LA TRANSFORMACION DE LA PLUMA CRUDA COMO
FUENTE DE PROTEINA PARA *Penaeus vannamei*".

TESIS

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

PRESENTA

ANTONIO DE DIOS URTEAGA

SINODALES



DR. ROBERTO MENDOZA ALFARO
DIRECTOR



DRA. ELIZABETH CRUZ SUAREZ
CO-DIRECTOR



DR. DENIS RICQUE MARIE
ASESOR INTERNO

ING. ROBERTO TELLEZ SALAZAR
ASESOR EXTERNO

Muchos son los descubrimientos reservados para las épocas futuras, cuando se haya borrado el recuerdo de nosotros. Nuestro universo sería una cosa muy limitada si no ofreciera a cada época algo que investigar... La naturaleza no revela sus misterios de una vez para siempre
Séneca, *Cuestiones naturales*.

Es posible creer que todo lo conseguido por la mente humana no es sino el sueño antes del despertar... Surgirán... de nuestro linaje mentes que volverán su atención a nosotros en nuestra pequeñez y nos conocerán mejor de lo que nos conocemos nosotros. Llegará un día, un día en la sucesión infinita de días, en que seres, seres que están ahora latentes en nuestros pensamientos y escondidos en nuestros lomos, se erguirán sobre esta tierra como uno se yergue sobre un escabel y reirán y con sus manos alcanzarán las estrellas

H.G. Wells, "El descubrimiento del futuro"

Observa lo que no se puede ver, escucha lo que nadie dice, esa es la realidad.

Mariel Turrent Eggleton

DEDICATORIA

A mi hermano Joaquín Alberto (q.p.d.)

A mis padres Elva y Felipe

A mis hermanos: Felipe Antonio,
Fernando,
José Fransisco y sus familias.

AGRADEZCO

Al señor que nos a dado el gran privilegio de la vida y la capacidad de desarrollar nuestras aptitudes, de lo que nunca nadie a dejado de sentir enorme orgullo. Sentimiento que nos impulsa al éxito.

A mi madre y padre con todo mi cariño por haberme concebido, producto de su amor.

A mi maestro y director de tesis Dr. Roberto Mendoza Alfaro por sus cátedras, todo el tiempo dedicado así como a las ideas que ayudaron a enriquecer el presente trabajo, su experiencia transmitida y amistad. Así como por haber conseguido apoyo para los reactivos.

El desempeño y conducción de los coordinadores de la maestría: la Dra. Elizabeth Cruz S., y al Dr. Denis Ricque M. siendo que por su valioso tiempo concedido, conocimientos y experiencia transmitidos, son invaluable para mi formación, cuyos frutos serán el mejor agradecimiento que pudiera darles.

Para ellos mi más profundo reconocimiento por todas las experiencias (simposiums, viajes, pláticas, visitas, llamadas de atención, etc.) compartidas ya contienen esencia de cada uno de ustedes, y tendrán incalculable valor en mi vida.

A mis compañeros de generación y de la especialidad por brindarme su más noble y sencillo sentimiento, la amistad.

A la Biol. Rocío Romero Alvarez por su apoyo en los momentos difíciles y oportuna ayuda en el arduo trabajo. Por todo ello, gracias.

Al cuerpo docente de la Facultad de Biología y de Ciencias de los Alimentos que facilitó las instalaciones del laboratorio y dedicó tiempo a la impartición de temas de apoyo para complementar el perfil del egresado.

Al Ing. Roberto Tellez Salazar por su apoyo docente, experiencia laboral y por aceptar formar parte de la asesoría externa que engrandece el presente trabajo.

Al Dr. Ramón Pacheco Aguilar (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo) por su viaje especial cuya finalidad fue la de impartirnos muy interesantes cátedras.

Especialmente a las donaciones recibidas por parte del Dr. Ming Jong-Kiang (*Insta-Pro International*) por su asesoría y premezcla enzimática; al Ing. Juan Manuel Sánchez (Rastro avícola) por las plumas y atenciones, a Marie Mc. Carthy (*DARLINC INTERNATIONAL INC.*) por la harina de pluma. Todos estos materiales fueron imprescindibles para la realización del presente estudio, muchas gracias.

AL Ing. Fernando Mendizabal (*APELSA*), Sr. Luis Cantú (*Materias Primas para Alimentos Pecuarios*), Ing. Homero Garza Calderón (*RH Industrial*) por sus atenciones, observaciones y las cartas recibidas para conseguir el impulso final parte de *SIREYES* para la terminación el presente estudio.

RESUMEN

La acuicultura se ha venido expandiendo a un ritmo de 20% anual a nivel mundial, por lo que se estima que las 4.3 millones de toneladas métricas (TM) de alimento que se requieren para su desarrollo se incrementen a 14 millones de TM para el siguiente siglo. Hasta el momento la harina de pescado es la principal fuente de proteína, sin embargo su producción finita y su alta demanda repercuten directamente en su precio en el mercado. Con la finalidad de solventar este problema se han venido formulando objetivos en torno a la identificación de fuentes de proteína que permitan sustituciones importantes de la harina de pescado en los alimentos acuícolas. A este respecto, los subproductos avícolas aunque muy disponibles han sido poco estudiados, sin embargo al parecer ofrecen un gran potencial debido al perfil de aminoácidos que presentan y a la posibilidad de incrementar su digestibilidad mediante procesos de transformación tales como la extrusión y la hidrólisis enzimática. Esto nos orilló a plantear un estudio donde se probará el efecto de la exposición de plumas de ave a diferentes tiempos de hidrólisis con una mezcla enzimática comercial (30, 60 y 120 minutos) y se seleccionará el mejor tiempo considerando la digestibilidad *in vivo* en camarones e *in vitro* con tripsina, así como en el crecimiento. Los resultados muestran que no hay mermas en el crecimiento de los grupos de organismos que fueron alimentados con los Hidrolizados Enzimáticos de Pluma co-extruidos con pasta de soya, con respecto a la dieta control. Las mejores tasa de conversión alimenticia se obtuvieron con la dieta control (1.6303) y con la dieta HEP60x2 (1.6874). Esto es consistente con la razón de eficiencia proteica. La correlación del método de tiempo de tránsito con la digestibilidad *in vitro* resultó no significativa ($P=0.137$). En conclusión: es factible lograr porcentajes de inclusión de hasta un 18% de pluma transformada en sustitución de harina de pescado, lo que reduce el costo del alimento de 9 a 12%.

INDICE

PAGINAS

1) INTRODUCCION.	1
2) ANTECEDENTES.	2
2.1) Fuentes convencionales y no convencionales de proteína utilizadas en los alimentos acuícolas	2
2.2) Subproductos de la industria avícola utilizados como fuentes alternas de proteína	3
2.3) Potencial de los subproductos avícolas	7
2.3.1.) Productos nitrogenados de la pluma	7
2.3.2.) Utilización probada de subproductos avícolas en alimentos acuáticos	7
2.4) Métodos de procesamiento para la obtención de harina de pluma	8
2.5) Propiedades Fisico-Químicas de la queratina (Bioquímica).	9
2.6) Estudio descriptivo de las tecnologías tradicionales de hidrólisis y de la hidrólisis enzimática	9
A) Hidrólisis química	9
B) Hidrólisis menos drásticas	9
C) Hidrólisis por vapor con ó sin aditivos	10
C.1) Hidrólisis de pluma por vapor virgen y con acelerador químico (HCl)	10
C.2) Hidrólisis enzimática	11
1.- Hidrólisis enzimática de plumas según el procedimiento de DUCROO y JAKUBCZAK con la rapidasa del Instituto PASTEUR, (1977)	11
2.- Hidrólisis enzimática de plumas por el procedimiento de PRENASETTA, (1982)	12
3.- Hidrólisis enzimática por el procedimiento INSTA-PRO, (1994)	12
2.7) Influencia de los tratamientos Fisico-Químicos y enzimáticos sobre el valor nutricional de las harinas de pluma	13
1.- Problemas inherentes a los tratamientos de la queratina de la pluma	13
2.- Problemas asociados a la industrialización de su procedimiento	14

PAGINAS

2.8) Métodos e importancia de la digestibilidad para la evaluación de las nuevas fuentes proteicas	14
2.9) Ventajas de la tecnología de alimentos en el reciclamiento de subproductos .	15
2.10) El papel de la extrusión en el reciclado de subproductos	15
2.11) Análisis financiero de la transformación de pluma cruda mediante la hidrólisis por cocción, hidrólisis enzimática y extrusión, para la obtención de diferentes ingredientes proteicos	17
3) OBJETIVOS	21
Objetivo general	
Objetivos particulares	
4) ORIGINALIDAD	21
5) HIPOTESIS DE TRABAJO	21
6) MATERIAL	22
6.1) Material biológico	22
6.2) Sala de bioensayos.	22
6.3) Equipo para los análisis bromatológicos, la elaboración de las dietas y la medición de los parámetros fisico-químicos	22
7) METODOS	24
7.1) Proceso para la obtención de harina de pluma hidrolizada por cocción .	24
7.2) Proceso para la obtención de un ingrediente proteico a base de pluma de ave, mediante hidrólisis enzimática	25
7.3) Co-extruido del hidrolizado enzimático de pluma (HEP) y de la harina de pluma hidrolizada por cocción (HPHC) con pasta de soya	26
* Configuración y temperaturas del extrusor	27
7.4) Método para determinar la proteína soluble	28
7.5) Lixiviación	29
7.6) Formulación de las dietas experimentales	30
* Dietas que se utilizarán en el bioensayo de crecimiento	30

PAGINAS

7.7) Método para evaluar la digestibilidad <i>in vitro</i> de las dietas	32
7.7.1) Estandarización de la actividad enzimática	34
7.8) Tiempo de tránsito	34
7.9) Diseño experimental	35
7.10) Análisis de los resultados	36
8) RESULTADOS	37
8.1) Adquisición y transformación de la pluma virgen	37
8.1.1) Molienda e hidrólisis enzimática	37
8.1.2) Co-extrusión	37
8.2) Análisis de los ingredientes	38
8.2.1) Grado de hidrólisis	38
8.3) Análisis y formulación de las dietas	40
8.4) Bioensayo de crecimiento	41
* Parámetros Físico-Químicos durante el bioensayo de crecimiento	46
8.5) Evaluación de la digestibilidad <i>in vitro</i> de los ingredientes mediante la técnica de pH-Shift	47
8.6) Correlación de la digestibilidad <i>in vitro</i> vs. digestibilidad <i>in vivo</i>	48
8.7) Análisis financiero del costo de las dietas	49
9) DISCUSIONES	51
9.1) Aspectos tecnológicos (Transformación)	51
9.1.1) Características de la pluma	51
9.1.2) Riesgo de descomposición	51
9.1.3) Introducción de la mezcla enzimática	52
9.1.4) Confirmación de la hidrólisis	52
9.1.5) Tamaño de los péptidos	52
9.1.6) Inclusión de la pasta de soya	53
9.1.7) Papel de la co-extrusión	54
9.2) Composición nutricional de los ingredientes	54
9.3) Evaluación nutricional de los ingredientes	55
9.3.1) Modificación del método pH-Shift	55
9.3.2) Digestibilidad <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	56

PAGINAS

9.4) Evaluación nutricional de las dietas	56
9.4.1) Digestibilidad <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	56
9.4.2) Ganancia en peso, TCA y PER.	57
9.5) Análisis financiero	59
10) CONCLUSIONES	60
11) LITERATURA CITADA	61
ANEXOS	68

INDICE DE TABLAS

<u>No.</u>	<u>TITULO</u>	<u>PAGINA</u>
1	Miscelánea de fuentes proteicas no convencionales y convencionales para camarón	2
2	Subproductos avícolas probados en nutrición animal con uso potencial en la acuacultura	3
3	Contenido porcentual de los nutrientes y aminoácidos esenciales en % de proteína, de la pluma en sus diferentes presentaciones, en comparación con una harina de pescado estandar	4
4	Contenido de aminoácidos esenciales en % de proteína, en la pasta de la harina de pluma hidrolizada por cocción y la pasta de soya, comparados con los requerimientos del camarón	5
5	Ventajas nutricionales y operacionales de la extrusión	15
6	Comparación de costos de la proteína digestible de la harina de pescado y harina de pluma	18
7	Comparación de costos de dos ingredientes proteicos	20
8	Parámetros considerados en los análisis bromatológicos de los ingredientes y las dietas	30
9	Parámetros zootécnicos que se consideraron en el bioensayo de crecimiento	31
10	Ingredientes de una dieta común para camarón	32
12	Porcentajes de inclusión de la harina de pescado, hidrolizados enzimáticos y la harina de pluma hidrolizada por cocción en las dietas experimentales ó tratamientos	35
13	Rangos de las condiciones durante la co-extrusión	37
14	Comparación de los porcentajes promedio de la composición nutricional de los ingredientes experimentales (Base seca)	38

<u>No.</u>	<u>TITULO</u>	<u>PAGINA</u>
15	Porcentajes promedio de la composición nutricional y fórmulas de las dietas experimentales (Base seca)	40
16	Parámetros fisico-Químicos durante el bioensayo de crecimiento	46
17	Pendientes obtenidas con el método pH-Shift y porcentajes de digestibilidad in vitro aplicando la Tripsina de páncreas porcino (Tipo IX)	47
18	Pendientes obtenidas con el método pH-Shift y porcentajes de digestibilidad in vitro aplicando la Tripsina de páncreas bovino (Tipo XI)	48
19	Pendientes obtenidas con el método pH-Shift y porcentajes de digestibilidad in vitro aplicando la ' <i>Hepatopancreatina</i> ' de páncreas de camarón	48
20	Correlación de la digestibilidad in vitro vs. digestibilidad in vivo	49
21	Promedios de la digestibilidad in vivo	49
22	Comparación de costos de la proteína digestible de la harina de pescado y el hidrolizado enzimático, HEP120ex	50

INDICE DE FIGURAS

<u>No.</u>	<u>TITULO</u>	<u>PAGINA</u>
1	Comparación de dos procesos de hidrólisis de pluma cruda y el costo de ambos productos	13
2	Corte longitudinal del cilindro de un extrusor que muestra la posición de los anillos de presión y del con nariz, la dirección del proceso y la configuración	27
3	Procedimiento para la determinación del porcentaje de pérdida de la materia seca de un alimento lixiviado	29
4	Comparación de las concentraciones promedio (mg/ml) de la proteína soluble, entre: la pluma molida, pasta de soya, la pluma combinada con pasta de soya (1:1) sin extruir y los diferentes ingredientes experimentales co-extruidos	39
5	Comparación de los pesos promedio inicial y final (g) de los diferentes grupos experimentales	42
6	Ganancia en peso promedio de los grupos experimentales	42
7	Evaluación de la tasa de conversión alimenticia de las dietas experimentales	43
8	Evaluación de la razón de eficiencia protéica de las dietas experimentales	43
9	Evaluación del consumo de las dietas experimentales a los 30 días	44
10	Evaluación de la sobrevivencia de las dietas experimentales a los 30 días	44
11	Evaluación del tiempo de tránsito de las dietas experimentales	45
12	Pendientes de la digestibilidad <i>in vitro</i> (Tripsina de páncreas porcino) contra tiempo de tránsito intestinal (min)	46

I) INTRODUCCION

Actualmente los cultivos de organismos acuáticos, en sistemas semi-intensivos e intensivos, se encuentran en continua expansión a razón de un 20 % anual a nivel mundial (Meyers, 1990), y se perfila como uno de los sectores más importantes para la producción de alimentos. Las razones de este crecimiento sostenido son: el incremento de la demanda mundial por los productos acuícolas (especialmente por los países desarrollados), la necesidad de un suministro de productos de calidad constante y la oportunidad de atractivos rendimientos en este sector (Lovell, 1992).

Los volúmenes de producción que se han venido alcanzando a través de estos métodos de explotación son del orden de los 23.3 millones de ton anuales (FAO, 1992). Por otro lado la demanda actual de alimentos balanceados para satisfacer esta producción es de 4.3 millones de ton y se estima que para el siguiente siglo sea de 14 millones de ton (Sanders, 1992), lo que ha creado, sin lugar a dudas, un mercado muy prometedor para la industria de los alimentos acuícolas (Kiang, 1990).

Estas necesidades de abasto le confieren una importancia relevante al sector acuícola en el aspecto económico dentro del mercado internacional de los alimentos (Meyers, 1990).

El desarrollo de la acuicultura depende en gran medida de la disponibilidad del alimento (rubro que en una operación normal de cultivo de camarón puede superar el 60% del costo de la producción) y a su vez de la disponibilidad de la principal fuente de proteína, la harina de pescado, supeditada al abastecimiento finito de los recursos pesqueros así como a su incremento en precio. Dichas razones han sembrado cierta incertidumbre en los organismos internacionales acerca del sostenimiento y constancia del suministro de éste ingrediente para continuar cubriendo las demandas de la industria acuícola (De la Higuera, 1985).

Por otro lado es pertinente considerar la necesidad de un alto porcentaje de incorporación de proteína (25 a 65 %, en base húmeda) en las dietas de crustáceos y peces, para su rápido desarrollo (Kanasawa, 1990), y el alto valor económico de éste nutriente en la producción de alimentos acuícolas (New, 1976).

Considerando lo anterior, existe un progresivo interés tanto de la industria de los alimentos como de los acuicultores para tratar de disminuir el costo del alimento, y por ello, se han venido formulando objetivos en torno a la identificación de nuevas fuentes de proteína, certificación de su valor nutricional, e innovación de métodos para su transformación. Esto deberá repercutir en la disminución de los niveles de harina de pescado en los alimentos acuícolas mediante la sustitución, aunque sólo en forma parcial, por las fuentes de proteína alternas (De la Higuera, 1985).

2) ANTECEDENTES

2.1) FUENTES CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES DE PROTEINA UTILIZADAS EN LOS ALIMENTOS ACUICOLAS

Las fuentes convencionales de proteína han dado resultados probados tanto a nivel experimental como comercial y su selección se ha venido llevando a cabo durante varios años. Cabe mencionar que la mayor parte de las fuentes no convencionales se han utilizado de manera incipiente, no obstante su gran potencial nutricional, principalmente debido a los procesos de transformación que se requieren así como el costo que implican los mismos.

En una revisión realizada recientemente por Mendoza (1993), se mencionan las fuentes de proteína más utilizadas en las dietas para peces y crustáceos (Tablas 1 y 2).

TABLA 1. MISCELANEA DE FUENTES PROTEICAS NO CONVENCIONALES Y CONVENCIONALES PARA CAMARON

FUENTES NO CONVENCIONALES	FUENTES CONVENCIONALES
<ul style="list-style-type: none">♦ Harina de sangre*♦ Harina de carne y hueso*♦ Harina de pluma hidrolizada♦ Harina de acacia♦ Pasta de semilla de algodón (Harinolina)♦ Pasta de canola y colza♦ Harina de proteínas unicelulares♦ Harinas diversas (eg. harina de pupas de gusano de seda, harina de grilleta, anélidos, harina de krill, cladóceros, etc.)	<ul style="list-style-type: none">♦ Harina de pescado♦ Harina de cabeza de camarón♦ Harina de cangrejo♦ Harina de calamar♦ Pasta de soya♦ Gluten de maíz♦ Gluten de trigo♦ Hidrolizados de pescado♦ Levadura

* Harinas de uso común en dietas para bagre, y otros peces.

En la siguiente Tabla de manera particular se presentan los subproductos derivados de la industria avícola.

TABLA 2. SUBPRODUCTOS AVICOLAS PROBADOS EN NUTRICION ANIMAL CON USO POTENCIAL EN LA ACUACULTURA

- ◆ Harina de pluma hidrolizada por cocción ⁵
- ◆ Harina de pluma hidrolizada enzimáticamente ⁵
- ◆ Gallinas enteras molidas ^{1,2}
- ◆ Harina de subproductos avícolas, originados por limpieza manual y mecánica ^{1,2}
- ◆ Residuos de incubadoras (pollitos no vendibles provenientes del sexado y selección) ³, huevos infértiles ², huevo de incubadora mal logrado . .

FUENTES : 1) Haque, *et.al.* 1991.

2) Tadiyanant, *et.al.* 1993.

3) Tellez, 1982.

4) Harvey, 1992.

5) Gill, 1989.

En base a lo anterior se puede considerar que existe una gran variedad de subproductos animales que pueden ser utilizados como nutrientes para los alimentos acuícolas, sin embargo, según De la Higuera (1985), es esencial tomar en cuenta una serie de criterios para seleccionar posibles fuentes proteicas alternas, como son:

- El contenido proteico del producto a utilizar deberá permitir sustituciones importantes de la harina de pescado, ya que la formulación de las dietas para organismos acuáticos debe contemplar no solo el nivel de proteínas, sino la inclusión de lípidos, hidratos de carbono digestibles así como vitaminas y minerales en cantidades adecuadas.
- La cantidad de aminoácidos esenciales que aporte, deberá contribuir a cubrir los requerimientos del animal.
- Deberá tener una alta digestibilidad proteica para reunir los criterios de cantidad y calidad.

2.2) SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA AVICOLA UTILIZADOS COMO FUENTES ALTERNAS DE PROTEINA

Dentro de la gran variedad de fuentes de proteína utilizadas hasta el momento no se le ha conferido suficiente atención a los subproductos de la industria avícola y ganadera. En efecto, una de las soluciones a corto plazo a los problemas mencionados se encuentra en la amplia gama de subproductos generados por estas industrias (Duerr, *et.al.* 1992), (como lo muestran las Tablas 1 y 2), (Haque, *et.al.* 1991).

Nutricionalmente los subproductos avícolas deben ser considerados como recursos renovables (re-utilizables y siempre disponibles) debido a su composición bruta y a la gran cantidad de nutrientes que en éstos residuos se pueden encontrar (Harvey, 1992) y al ser correctamente procesados pueden ser considerados como ingredientes útiles en la elaboración de alimentos acuícolas (Kearns, 1990; Nabil, 1992).

Diferentes autores confirman lo anterior describiendo cualitativa y cuantitativamente el contenido de aminoácidos esenciales de las diferentes presentaciones de la pluma (de particular interés en el presente estudio), en relación a una fuente de proteína estándar como lo es la harina de pescado (Tabla 3).

TABLA 3. CONTENIDO PORCENTUAL DE LOS NUTRIENTES Y AMINOACIDOS ESENCIALES EN % DE PROTEINA, DE LA PLUMA EN SUS DIFERENTES PRESENTACIONES, EN COMPARACION CON UNA HARINA DE PESCADO ESTANDAR

NUTRIENTES	CRUDA ¹	HARINAS DE PLUMA :		HARINA DE PESCADO ⁴
		HIDROLIZADA ²	EXTRUIDA ³	
PROTEINA CRUDA	71.19	86.29 ☒	52.96	69.33
GRASA CRUDA	21.42	0.16	0.22	9.33
FIBRA CRUDA	2.13	1.42	4.2	1.11
E.L.N.	-	10.67	38.97	0.19
CENIZAS	5.25	1.46	3.65	20.04

AMINOACIDOS

ARGININA	4.64 *	5.61	2.06	3.81
HISTIDINA	0.31 *	0.55	n.d.	1.32
ISOLEUCINA	3.01 *	3.88	1.29	2.21
LEUCINA	6.16 *	6.57	2.31	3.54
LISINA	0.73 *	1.73	1.57	4.04
METIONINA	0.21 *	0.47	0.41	1.26
FENILALANINA	3.72 *	3.94	n.d.	1.93
TREONINA	3.33 *	3.76	1.17	2.15
TRIPTOFANO	0.89 *	0.22	n.d.	0.4
VALINA	5.96 *	6.23	n.d.	2.38

♦ n.d., no detectado.

FUENTES: 1) Nabil W.S., TRIPLE "F", INC., *com. pers.*; 2) Tadiyanant, C., *et al.*, (1993); 3) Blake, *et al.* (1991) in: Nabil, W.S., (1992); 4) Feedstuff, (1992); (*) Kling, M. & Woehlbier (1977)

(☒), La diferencia en la proteína de la pluma cruda, con respecto a la proteína de la pluma hidrolizada (por cocción), se debe a la pérdida de algunos nutrientes durante el proceso de transformación.

En la Tabla 4 se muestra el perfil de aminoácidos esenciales de la pluma hidrolizada por cocción (presentación más común hasta el momento en el mercado), de la pasta de soya (una de las fuentes de proteína más económicas y completas), y los requerimientos del camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*). Estos datos muestran las expectativas de enriquecimiento nutricional que pueden adquirir ambos subproductos.

TABLA 4. CONTENIDO DE AMINOACIDOS ESENCIALES EN % DE PROTEINA, DE LA HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION Y LA PASTA DE SOYA, COMPARADOS CON LOS REQUERIMIENTOS DEL CAMARON

AMINOACIDO	PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION ² (%)	PASTA DE SOYA ¹ (%)	HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION Y PASTA DE SOYA EN UNA PROPORCION DE , 1:1. ³	REQUERIMIENTOS DEL CAMARON ⁴ (%)
ARGININA	5.61	7.95	6.78	2.44
HISTIDINA	0.55	2.97	1.76	0.69
ISOLEUCINA	3.88	4.87	4.38	1.07
LEUCINA	6.57	8.29	7.43	2.20
LISINA	1.73	6.80	4.27	2.31
METIONINA	0.47	1.53	1.00	0.85
FENILALANINA	3.95	5.63	4.79	1.21
TREONINA	3.76	4.30	4.03	1.51
TRIPTOFANO	0.22	1.67	0.95	0.42
VALINA	6.23	5.34	5.79	1.34

FUENTES:

- 1) Nabil W.S., TRIPLE "F", INC., *com. pers.*
- 2) Tadtianant, C., *et al.*, (1993).
- 3) Calculo efectuado para fines comparativos.
- 4) Tacon, G.J.A., (1989).

La queratina representa del 85 al 90% de la materia nitrogenada de las plumas. Parece que su composición es interesante y original; la queratina es rica en treonina, arginina, valina y leucina y muy rica en cistina; contrariamente, las tasas de histidina, lisina y metionina son bastante bajas (Menassa, 1982).

Estos datos muestran que el reciclado de los subproductos avícolas representa una alternativa viable para la elaboración de alimentos para la acuicultura. Dicha opción, a pesar de ser dispendiosa comparada con los métodos tradicionales de eliminación (composta, quema y rellenos sanitarios), podría resultar rápidamente amortizable e incluso atractiva desde el punto de vista económico, debido a la gran cantidad de nutrientes que se pueden encontrar en éstos residuos y particularmente en lo que se refiere al componente proteico (Harvey, 1992).

2.3) POTENCIAL DE LOS SUBPRODUCTOS AVICOLAS

En la actualidad la utilización de subproductos contribuye a solventar tres problemas principales:

- 1) La reducción del costo del alimento balanceado para la acuicultura considerando que se incluye una fuente proteica de calidad y bajo costo (Kearns, 1991).
- 2) La reducción de los grandes volúmenes de desechos orgánicos (derivados de la industria avícola), disminuyendo el costo ambiental que causa tanto la acumulación como la quema de desperdicios (Woodrooffe, 1993).
- 3) La reducción de gastos de transporte de los subproductos a los rellenos sanitarios (Gill, 1989).

Para tener un punto de reflexión del potencial de estos subproductos Haque *et.al.*, (1991) menciona que el número de gallinas ponedoras en E.U.A. fue de 280 millones en 1988, de las cuales un porcentaje sustancial completó su ciclo productivo durante el año y posteriormente se vendieron como gallinas de desecho. En México, en el año de 1993 se produjeron aproximadamente 280 millones de gallinas ponedoras y al término de su ciclo se vendieron a muy bajo precio para consumo humano ó para la elaboración de embutidos (CANACINTRA, 1991-1992). Cabe hacer notar que del 20 al 23 % del peso total de una gallina no es comestible (Harvey, 1992; Moreno, G.M., AVIMSA, *com. pers.*), y de dichos volúmenes se habrían podido recuperar 61.6 y 22.7 millones de ton de subproductos no comestibles, respectivamente.

Si se consideran a éstos subproductos como desechos, lo cual es el caso actualmente en gran parte de esta industria, se genera un grave problema de eliminación. Para ejemplificar la dimensión de esto se puede mencionar que en nuestro país se hacen matanzas semanales de 5.4 millones de aves para el consumo humano, cuyo tonelaje aproximado es de 10 millones y sus desperdicios comúnmente sobrepasan las 9,200 ton de materia seca (2.3 millones de ton de materia húmeda), (CANACINTRA, 1991-1992). Comparativamente cabe mencionar que en los E.U. y Canadá se realizan matanzas semanales de 110 millones de pollos para el consumo humano y los desperdicios llegan a sobrepasar las 100 mil ton que representan 25 mil ton de materia seca, sin incluir las aves muertas y los desechos de la incubadoras. En el estado de Wisconsin, Gill (1989) reporta la producción de 100 toneladas semanales de subproductos avícolas y de incubadora lo que implica un gasto de \$1000 U.S. dls diarios por transportarlas 120 millas al centro de acopio más cercano.

Según ciertos industriales un mínimo de 80 mil aves sacrificadas por semana sería necesario para vislumbrar una recuperación y valorización de subproductos. De este volumen se podría recuperar aproximadamente 14.9 ton de pluma húmeda (5,984 kg en base seca) (Menassa, 1982). A título de ejemplo de lo anterior podemos mencionar que tan sólo en el área de Monterrey, N.L. se producen aproximadamente 126 ton de pluma de pollo a la semana y a nivel nacional 990,244 ton, lo que representa 53.2 y 415.2 ton semanales de materia seca, respectivamente (Moreno, G.M., AVIMSA, *com. pers.*; CANACINTRA, 1991-1992)(*c.f.* escala, pp.24).

Desafortunadamente, no existen estadísticas precisas concernientes a la recuperación regional de subproductos de aves en el país para poder tener un punto de comparación con otros estados, ya que esto está en función de un gran número de parámetros, principalmente :

- La densidad de producción regional
- Implantación y dimensión de los rastros
- Existencia de unidades de tratamiento de subproductos anexos a los rastros
- Existencia de industrias de transformación secundaria
- Cotización del mercado regional de subproductos

La utilización de nuevas tecnologías de transformación de plumas debería absorber la casi totalidad de la producción ya que la harina obtenida sería competitiva por su composición y precio (Menassa, 1983).

2.3.1) PRODUCTOS NITROGENADOS DE LA PLUMA

Las harinas de pluma son una fuente concentrada de proteína que puede contribuir al aumento las sustancias nutritivas y la densidad energética de los alimentos acuícolas, mejorando así la eficacia alimenticia, lo que reduciría al mismo tiempo el volumen de la ración

La disponibilidad de los aminoácidos de las harinas de pluma de diferentes aves es idéntica y se puede situar alrededor del 95% por lo cual es comparable a las materias proteicas clásicas. Summers (1969), sugiere una disponibilidad de la proteína de la pluma del 90% mientras que los valores medios de las harinas convenientemente tratadas llegan a 70 - 75% (digestibilidad por Pepsina *in vitro*).

Por otra parte parecería que existen en la harina de pluma factores de crecimiento, sin duda en relación con el aporte de nitrógeno indiferenciado, lo cual actuaría como un factor de apetencia ó en el desarrollo de fermentaciones sobre las plumas húmedas almacenadas antes del tratamiento (Menassa, 1982).

2.3.2) UTILIZACION PROBADA DE SUBPRODUCTOS AVICOLAS EN LIMENTOS PARA ORGANISMOS ACUATICOS.

Con la finalidad de ilustrar la factibilidad de utilización de subproductos avícolas en peces y crustáceos a continuación se presentan algunos ejemplos.

Boghen & Castell (1981), al trabajar con langostas juveniles, encontraron que el suministro de una dieta con 50% (en base seca) de harina de pluma permitía buenas sobrevivencias, así como un crecimiento considerable.

Lawrence, *et al.* (1991) emplean harina de pluma hidrolizada por cocción, de subproductos avícolas y de carne y hueso de res para sustituir de 2.5 a 10 % de la harina de pescado en dietas para *Penaeus vannamei*. En condiciones de laboratorio encuentran diferencias menores, hasta de un 7 % en el crecimiento, con respecto a las dietas comerciales.

Kikuchi, *et al.* (1994) utilizan diferentes niveles de harina de pluma hidrolizada por cocción como fuente de proteína en dietas para lenguado Japonés juvenil, y encuentra que del 12 al 25 % de harina de pescado puede ser sustituida de manera apropiada por harina de pluma .

Bishop, *et al.* (1995) sustituyen la harina de pescado y harina de hueso y carne de res en dietas para tilapia (*Oreochromis niloticus*), con harina de pluma hidrolizada por cocción. Observan que la sustitución de hasta un 66 % de éstas fuentes de proteína animal no merma de forma considerable el crecimiento, con sobrevivencias mayores al 93 %.

Por otra parte, Voss (1985) utilizando dietas compuestas para rodaballo (lenguado) probó que se puede llegar a sustituir hasta un 50 % de la harina de pescado con menudencias de pollo mezcladas con harina de pluma hidrolizada, sin menguas aparentes en el crecimiento.

Castro, *et al.* (1993) utilizaron un marcador inerte, óxido de cromo, para evaluar en dietas para Corvina *Sciaenops ocellatus*, la digestibilidad aparente de la proteína de la pluma hidrolizada por cocción, como ingrediente (43.2 %) y en la dieta que la contiene (67.9%).

Steffens (1994), estudia el porcentaje de harina de subproductos avícolas y harina de pluma que puede sustituir a la harina de pescado en dietas para la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Encuentra que el reemplazo de un 27% de la harina de pescado, con una mezcla de las harinas mencionadas, se obtienen tasas de conversión alimenticia de 1.15.

2.4) METODOS Y PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCION DE HARINA DE PLUMA.

Para separar el efecto de las condiciones de procesamiento de las de la calidad natural de la pluma, hay que considerar la variación del tipo particular de pluma (en orden de importancia: la edad del animal, especie y región corporal), lo cual de no ser respetado, la composición de la harina de pluma sería poco fiable y se limita su utilización, subevaluando su potencial, de aquí que tradicionalmente no se incorpore más de 5% en los alimentos para aves (Gill, 1989). Por otra parte hay que considerar las variaciones de los porcentajes de materia seca, proteína cruda, grasa y digestibilidad encontradas en las harinas de subproductos avícolas de las diferentes operaciones comerciales (Dong *et al.*, 1993). La magnitud de estas variaciones conlleva a la necesidad de evaluar la composición química de los subproductos si se van a usar como ingredientes para la formulación (Haque, *et.al.* 1991).

Ante estos inconvenientes se han buscado diferentes soluciones para mejorar la calidad nutricional de la pluma. Se ha reportado que por medio de la complementación de la harina de pluma con lisina, metionina y triptofano provenientes de otras harinas de subproductos avícolas, se podría llegar a sustituir integralmente la harina de pescado en dietas para truchas (Tiewes *et al.*, 1976).

2.5) PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE LA QUERATINA

Bioquímica.- La queratina constituye el 80 y 85% de los productos nitrogenados de la pluma, pertenece al grupo de las escleroproteínas, estas son insolubles en agua fría, aún en presencia de ácidos ó de bases diluidas, por otra parte son resistentes a la hidrólisis de las proteasas.

Las características de resistencia de la queratina están en relación con su riqueza en cisteína lo que le confiere, después de la formación de puentes inter e intra-peptídicos de tipo covalente, una estructura terciaria en forma de hélices entrelazadas las unas a las otras (Menassa, 1982).

2.6) ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS TECNOLOGIAS TRADICIONALES DE HIDROLISIS Y DE LA HIDROLISIS ENZIMATICA

Las propiedades de resistencia de la queratina se deben en parte a su composición molecular (*c.f.* Bioquímica). Esta composición explica la dificultad para degradar las proteínas debido al gran número de enlaces que se necesitan romper. La ruptura de los puentes disulfuro entre los residuos de cisteína es una condición necesaria antes de cualquier tratamiento.

A pesar de que los diferentes procedimientos físicos y/o químicos que han sido experimentados para hacer de la pluma un ingrediente útil en términos nutricionales, su aplicación industrial no siempre se ha concretado ya sea por el valor del producto obtenido, o bien a los imperativos tecnológicos y económicos que implica su transformación (Menassa, 1982).

A continuación se presenta un panorama que contempla los procedimientos utilizados en la actualidad para el procesamiento de la pluma.

A) HIDROLISIS QUIMICA

1.- Solubilización de la queratina de la pluma por medio de sosa caliente.- Este tratamiento permite obtener el 50% de la queratina inicial en forma de fracción proteica soluble mientras que la otra mitad se encuentra en forma de aminoácidos libres y no hay producción de polipéptidos.

Es fácil solubilizar totalmente la queratina de plumas por medios exclusivamente químicos, aunque se trata en general de tratamientos drásticos que provocan la pérdida de aminoácidos y una profunda desnaturalización proteica. Así el tratamiento por la sosa provoca una pérdida importante de cisteína, la producción resultante de polipéptidos es baja y consecuentemente la mayor parte de los aminoácidos se encuentran libres. El producto final es de aspecto negro y de un olor suigeneris.

B) HIDROLISIS MENOS DRASTICAS

1.- Utilización de diferentes reactivos.- Se ha demostrado que la adición de tioglicolato, urea, sulfuro de sodio y carbonato de sodio no aportan una mejoría notable dentro del proceso. Por otra parte el grado de hidrólisis de la molécula de queratina, *i.e.* la liberación de fragmentos libres dializables, es equivalente al de la sosa cuando se utiliza sulfuro de sodio.

2.- Utilización del reactivo de Schweitzer (Sol. amoniacal de óxido cúprico).- Este reactivo es muy potente en términos de solubilización de la queratina en una proporción de 1 mol de ión cúprico por 5 a 6 moles de nitrógeno. No se ha encontrado formación de lantionina a partir de los puentes S-H, pero los residuos de cistina son transformados en ácido cistéico y se encuentran en la queratina solubilizada. No hay aminoácidos libres en la solución y el aminograma de la queratina solubilizada es sensiblemente similar al de la queratina virgen

La oxidación por el reactivo de Schweitzer da buenos resultados ya que las pérdidas en aminoácidos son mínimas, debido a que la cistina no es transformada en lantionina (signo de desnaturalización); sin embargo una fuerte concentración de cobre esta presente en el medio.

3.- Utilización de cal hidratada.- En este procedimiento clásico las plumas son mezcladas con cal hidratada para hidrolizar una parte de la queratina. La principal consecuencia negativa de este tratamiento es una pobre digestibilidad, debido a una hidrólisis incompleta. Este procedimiento se ha venido abandonando debido al bajo valor nutricional obtenido en la harina

4.- Solubilización de la queratina de la pluma mediante Dimetil Formamida (DMF).- La solubilización por la DMF hace aparecer un déficit a nivel de los aminoácidos básicos (lisina, histidina, arginina) la cistina puede ser perdida sin transformarse en ácido cistéico; la digestibilidad de este producto así como la eventual toxicidad del DMF no han sido verificadas (Menassa, 1982).

C) HIDROLISIS POR VAPOR CON O SIN ADITIVOS QUIMICOS

El método tradicional es el de hidrólisis por cocción con vapor, el cual implica varias combinaciones de presión, temperatura y tiempo. Esta cocción bajo presión es actualmente la única tecnología útil a nivel industrial y tiene como función principal romper las cadenas proteicas en elementos más pequeños. Para ser eficaz este método supone que ciertos parámetros determinados, tales como: temperatura, duración de la cocción y presión sean respetados, ya que su variación influye sobre el valor nutricional del producto final. El principal problema que se presenta bajo estas condiciones es el daño sustancial y selectivo a nivel de los aminoácidos, lo que disminuye en gran medida la disponibilidad de algunos de ellos como es el caso de la cistina (la cual se conjuga con dehidroalanina para construir lantionina), trayendo como consecuencia una digestibilidad baja y variable (Bierolai *et al.*, 1982, citado por Harvey, 1992).

C.1) HIDROLISIS DE PLUMA POR VAPOR VIRGEN Y CON ACELERADOR QUIMICO (HCl)

Por definición, el hidrolizado de pluma es el producto del tratamiento bajo presión de plumas limpias y enteras que provienen de aves sacrificadas, sin aditivos ni aceleradores (a 6% de humedad).

Sin embargo, con fines de mejorar los resultados se ha venido agregando aceleradores químicos (eg. HCl), lo que implica una baja sensible del porcentaje de cada uno de los aminoácidos, en particular disminuye notablemente la cistina (transformándose en lantionina) indicando que el tratamiento es muy severo, y con una acentuación de ésta pérdida, al aumentar la fuerza del tratamiento. El compromiso al aplicar este proceso se da entre la cocción y la cantidad de ácido, aparentemente es más fuerte el efecto destructivo por la cocción que por la agregación de HCl

Por otra parte, en el ingrediente proteico resultante, aunque llega a demostrar una digestibilidad correcta de 80% tiene un pobre valor biológico, esto último, sin duda es debido a la sensible baja de cisteína y metionina destruidas excesivamente por la cocción intensa (Menassa, 1982) y/o por la heterogeneidad del tamaño de los polipéptidos resultantes, debido a que es una transformación severa y no selectiva. Así que un aumento de la digestibilidad no se acompaña automáticamente de un aumento en el valor biológico.

Una conclusión en ésta fase es que la cocción por ebullición a reflujo en presencia de HCl tiene un efecto nefasto sobre los criterios biológicos y otros inconvenientes de orden técnico, como la acción corrosiva del ácido clorhídrico sobre las autoclaves. Estas son algunas de las razones por las cuales se ha abandonado este tipo de procedimiento (Menassa, 1982).

C.2) HIDROLISIS ENZIMATICA

1.- Hidrólisis enzimática de plumas según el procedimiento de DUCROO y JAKUBCZAK con la rapidasa del (Instituto PASTEUR, 1977).

En este procedimiento se asocian varios factores : la presión, el calor, los reactivos químicos y las enzimas con la finalidad de minimizar los inconvenientes aportados por la utilización separada y demasiado enérgica de cada uno de ellos y esperando una complementaridad ó una sinergia en la obtención de una proteína perfectamente asimilable.

Las bases del procedimiento asocian una aproximación por autoclave con un tratamiento reductor seguido de un tratamiento enzimático (por medio de una proteasa bacteriana alcalina -- Proteasa A2¹ de *Bacillus lienchenisformis*), de 12 a 24 horas.

La harina obtenida a partir de la fracción soluble por atomización contiene 87.5% de proteína, el hidrolizado no contiene trazas de aminoácidos libres y no esta constituido de grandes péptidos. Un tercio de la cisteína se pierde y se oxida en ácido cistéico (Menassa, 1982).

1, De acuerdo a las a las dosis exactas de los reactivos y enzimas utilizadas son mantenidas en secreto.

2.- Hidrólisis enzimática de plumas por el procedimiento de PRENASETTA, (1982).

Para este proceso las plumas se llevan a 25% de materia seca, se muelen y se adiciona sosa y sulfuro de sosa ambos en una proporción del 1%, la mezcla se deja a 4°C en agitación por una hora, y después se reposa durante tres horas hasta que resulte una pasta negra líquida. En seguida se agrega HCl para neutralizar el medio y un oxidante para decolorar la pasta. Posteriormente se agregan las enzimas durante 15 minutos en frío a una temperatura ambiente para realizar la hidrólisis.

El pH de la reacción es fuertemente básico y hay formación de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Las pérdidas de aminoácidos azufrados son débiles y la solubilidad enzimática es buena, sin embargo, hay que notar la presencia de Sulfato de Sodio (Na_2SO_4) y de un reductor (SO_2), (Menassa, 1982)

3.- La hidrólisis enzimática por el procedimiento Insta-Pro, (1994).

La hidrólisis enzimática es un proceso que ha venido cobrando importancia en lo que se refiere a la transformación de pluma de pollo y otros subproductos avícolas, como fuentes de proteína alimenticia.

Analizando los procesos tradicionales se ha mencionado que por el método convencional de cocido al vapor y alta presión, se produce de manera inevitable una pérdida del valor nutricional y, en cambio al utilizar el método de hidrólisis parcial de las plumas con una mezcla enzimática se conserva prácticamente todo el potencial nutritivo de éstas. El producto final es un ingrediente proteico estable, esterilizado, con una digestibilidad de hasta el 90% y una humedad variable de 12 - 14 % (Gill, 1989; Harvey, 1992).

Para llevar acabo la hidrólisis enzimática generalmente se emplean concentrados enzimáticos comerciales, los cuales contienen una mezcla de enzimas de amplio espectro, que incluyen: proteasas diversas (derechos del fabricante), amilasas, celulasas, lipasas y pectinasas obtenidas de la fermentación de *Rhizopus sp.* La mezcla es en general de alta potencia ya que sólo se necesitan aproximadamente 25 kg para hidrolizar una tonelada de pluma húmeda.

Por otra parte en el presente estudio se ha propuesto un método conjunto para obtener una fuente de proteína a partir de la pluma cruda, mediante la hidrólisis enzimática y co-extrusión con pasta de soya (Nabil W. Said., Triple "F", *com. pers.*). La aplicación de ambas tecnologías incrementa substancialmente la digestibilidad al romper los enlaces cisteína-cisteína, además de que la combinación de la pluma con la pasta de soya mejora el balance de aminoácidos en el producto co-extruido (Gill, 1989).

FIGURA 1. COMPARACION DE DOS PROCESOS DE HIDROLISIS DE PLUMA Y EL COSTO DE AMBOS PRODUCTOS

A) <u>HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION</u>	B) <u>HIDROLIZADO ENZIMATICO DE PLUMA</u>
PLUMA CRUDA MOLIDA EN UN COCEDOR	PLUMA CRUDA MOLIDA
↓	↓
CALOR (VAPOR Y PRESION)	PREMEZCLADO ENZIMATICO
↓	↓
COCIMIENTO (150°C / 60 min)	MEZCLAR CON UN AGENTE SECO Y/O CALENTAR PARA DETENER LA REACCION DE HIDROLISIS
↓	↓
PLUMA CON HUMEDAD APROX. DE 60%	SECADO DEL PRODUCTO
↓	
SECADO DEL PRODUCTO	
• COSTO POR TONELADA: \$ 1,630 M.N.	••COSTO APROX. POR TONELADA: \$ 1,079 M.N.

- Feedstuff (1993)
- Cálculo estimado de cotizaciones realizadas a través de encuestas

2.7) INFLUENCIA DE LOS TRATAMIENTOS FISICO-QUIMICOS Y ENZIMATICOS SOBRE EL VALOR NUTRICIONAL DE LA HARINA DE PLUMA

En el momento actual no se recurre a la utilización de la harina de pluma, como fuente alternativa de proteína debido a las restricciones de orden tecnológico inherentes a su fabricación, las cuales repercuten directamente en su calidad. Por otra parte, existen igualmente factores de orden económico que impiden su utilización a gran escala.

1.- Problemas inherentes a los tratamientos de la queratina de las plumas

La queratina es interesante y original, sin embargo debido a su característica de resistencia, exige recursos tecnológicos que mejoren su digestibilidad.

Algunos problemas concernientes a su valor biológico, son:

- La pérdida de aminoácidos (la destrucción de la cistina) debe ser mínima con el fin de preservar la composición de la queratina como fuente proteica.
- No debe haber aminoácidos libres.
- La harina de plumas debe estar constituida de péptidos grandes, lo que es deseable en la alimentación animal.
- La aparición de productos de reacción inútiles ó tóxicos debe ser evitada (desaminación, formación de lantionina y de lisinoalanina).

2.- Problemas asociados a la industrialización de su procedimiento

- La transformación debe ser simple.
- Los productos químicos utilizados deben ser poco costosos y no tóxicos.
- Los costos del tratamiento debe ser poco elevados de manera que sea posible que el producto fabricado sea competitivo con respecto al producto ya utilizado.
- Debe poseer una digestibilidad de al menos 75 %.
- Debe de pasar diferentes pruebas y entre otras, una prueba de inocuidad .

2.8) METODOS E IMPORTANCIA DE LA DIGESTIBILIDAD PARA LA EVALUACION DE LAS NUEVAS FUENTES PROTEICAS.

Los métodos *in vivo*, a pesar de todas las ventajas que presentan son onerosos, implican una gran labor y una cantidad considerable de tiempo. Cabe aclarar que éste método se desarrolla de manera concomitante (Nieto, 1995) a la presente investigación, por ello, los valores de algunas dietas del estudio señalado serán correlacionados con los valores de esas mismas dietas a las cuales se les aplicará la técnica *in vitro*, descrita más adelante. Por éstas razones, en el presente estudio sólo se llevará a cabo la técnica de digestibilidad *in vitro*.

Los métodos *in vitro* resultan ser una alternativa rápida y de bajo costo. Adicionalmente éste tipo de métodos permiten observar de cerca la dinámica de la hidrólisis (Mendoza, 1994; *com. pers.*).

La determinación de la digestibilidad de una fuente proteica es uno de los criterios primordiales para evaluar sus posibilidades nutricionales como componentes de una dieta (Kastell, 1961). Otras ventajas, que ofrece el estudio de la digestibilidad, son:

- poder incluir en la formula el nivel adecuado de proteína evitando los excesos, lo cual repercute directamente en el costo del alimento.
- contribuir a mantener la calidad del agua de los estanques de producción (Manriquez y Romero, 1993; Parsons, 1993).

Además, éste tipo de aproximaciones resulta especialmente útil para predecir la calidad de los ingredientes en el caso de la evaluación de mezclas de proteínas complementarias, en la evaluación de los métodos de transformación de los alimentos y en la determinación de la adaptación digestiva a materias nuevas.

Así, una materia prima puede tener un alto contenido en proteína y un buen patrón de aminoácidos esenciales, pero si su digestibilidad es baja, la disponibilidad ó la cantidad de aminoácidos susceptible de ser absorbida por el tracto digestivo del organismo disminuye, lo que por consecuencia se traduce en un menor crecimiento.

Lo anterior sugiere llevar a cabo investigación destinada a innovar los tratamientos que mejoren la disponibilidad de las proteínas (De la Higuera, 1985).

2.9) VENTAJAS DE LA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS EN EL RECICLAMIENTO DE SUBPRODUCTOS

Mediante ciertos procesos del reciclamiento de subproductos, particularmente en lo que concierne a la pluma, se pueden llegar a suscitar algunos inconvenientes, tales como: la alta humedad (60 a 70.52 %) que se retiene después de la cocción (Tadtiyanant, *et.al.* 1993) y su pobre digestibilidad (Gill, 1993). Afortunadamente en la actualidad existen tecnologías disponibles como la extrusión y la hidrólisis enzimática que permiten solventar la mayor parte de este tipo de dificultades.

Una condición sumamente importante es que para su conservación inmediata y su procesamiento subsecuente las plumas sean recuperadas como un subproducto único y de ser posible exentos de desechos (piel, sangre, excremento, vísceras, etc.), lo anterior debido a su alta sensibilidad al fenómeno de putrefacción. De aquí que una recomendación concreta radique en su utilización inmediata, o bien que sean lavadas, exprimidas y secadas en espera de su transformación ulterior.

2.10) EL PAPEL DE LA EXTRUSION EN EL RECICLADO DE SUBPRODUCTOS

La extrusión se ha convertido en una tecnología útil, integral y ante todo versátil en lo que respecta a la producción de alimentos. Algunas de las razones nutricionales y operacionales que han dado pie a esto, se exponen en la Tabla 5.

TABLA 5. VENTAJAS NUTRICIONALES Y OPERACIONALES DE LA EXTRUSION

NUTRICIONALES	OPERACIONALES
✓ Estabilidad del alimento en el agua	✓ Versatilidad del equipo de extrusión
✓ Mejores tasas de conversión alimenticia	✓ Altos niveles de producción (ton / h)
✓ Control de la densidad (flotación / hundimiento)	✓ Durabilidad mecánica
✓ Flexibilidad en cuanto a los materiales que se pueden utilizar para producir alimentos acuáticos	

► Fuente: Kiang, 1990 y Kearns, 1990.

Las ventajas de la tecnología de extrusión resultan evidentes:

- al calcular los costos de formulación (Kaerns, 1990),
- al ajustar la operación del extrusor para procesar una gran variedad de ingredientes y fórmulas para así cumplir con las características de los alimentos destinados a más de una especie.

Como se mencionó anteriormente, las opciones de un extrusor amplían las posibilidades de aplicación en la producción de alimentos (Mendoza, 1993), lo cual depende de:

- las materias primas que se incorporan en la formulación,
- la capacidad de controlar el proceso (tiempo, temperatura, humedad, densidad del producto, grado de daño físico y velocidad de suministro) y por ende la calidad del producto (Chuet, 1990).

Por otra parte, en lo que concierne al reciclamiento de los subproductos hay tres aspectos fundamentales que se deben tomar en cuenta:

1) Esterilización.- la extrusión tiene la ventaja de ser un proceso rápido que implica alta temperatura y presión, lo que garantiza casi al 100% que el producto extruido este libre de patógenos.

2) Humedad.- el intervalo de humedad considerado para obtener productos estables en condiciones comerciales de almacenamiento es de 9 a 12 %. En el caso de la harina de pluma al ser co-extruida con un agente seco (eg. grano de soya, humedad 7 %) se llega a reducir la humedad del producto, haciendo posible la complementación de sus características nutricionales (c.f. Técnicas de procesamiento; Mendoza, 1993). Industrialmente existe la posibilidad de exprimir la pluma que naturalmente contiene un grado de humedad de 60%, a un 10%. Sin embargo optamos por la tecnología de co-extrusión ya que nos permite prescindir del prensado (Menassa, 1982).

Para llevar a cabo esto se recomiendan, según Mendoza (*op.cit.*), las siguientes alternativas:

- remover el máximo de humedad antes de la co-extrusión por medio del prensado u otra técnica de remoción de agua
- incluir la cantidad mínima posible para alcanzar la humedad deseada
- extruir el material más de una vez

3) Constancia del producto.- para obtener productos acabados con una calidad constante (consistencia en el contenido de nutrientes de los diferentes lotes), es necesario:

- utilizar materia prima con valores químico-nutricionales constantes ó ajustar la formulación cuando varían
- mantener condiciones de proceso uniformes (temperatura, humedad y presión)
- usar aditivos como antioxidantes y antimicrobianos ó fungicidas

2.11) ANALISIS FINANCIERO DE LA TRANSFORMACION DE PLUMA CRUDA MEDIANTE LA HIDROLISIS POR COCCION, HIDROLISIS ENZIMATICA Y EXTRUIDA PARA LA OBTENCION DE DIFERENTES INGREDIENTES PROTEICOS.

En la actualidad, en nuestro país, no se producen harinas de un solo subproducto avícola. El inconveniente que se suscita al mezclar y transformar estos subproductos (piel, cabeza, pico, vísceras, plumas, hueso y en algunos casos desperdicios de incubadora) es la variabilidad en los nutrientes de las harinas, por lo que su precio en el mercado generalmente tiende a fluctuar. Por ello, los resultados de los estudios que prueban y establecen mejores rutas de transformación y/o determinan el valor nutricional de éstos subproductos en la alimentación animal (incluyendo los organismos acuáticos), justifican el decidido esfuerzo para su reincorporación a la producción animal.

Podría considerarse en cierto momento que el hecho de utilizar plumas de diferentes especies (por ejemplo: para completar un lote) pudiera implicar cierto grado de variabilidad del producto, no obstante hasta la fecha no ha sido discernido algún constituyente que sea particular para cada especie. Ya que el análisis químico revela que existen pocas diferencias en la composición de las plumas de las diferentes especies. Las variaciones más importantes parecen ser debidas en particular a la edad de los animales (siendo la proporción de agua notablemente más elevada en los organismos jóvenes), de aquí que sea una primera constante en cuanto a su composición. De hecho, se puede atribuir a dos factores la eventual variabilidad entre las harinas de pluma : a) el tratamiento en sí mismo: la hidrólisis (la duración de la cocción, temperatura y presión; 2) las condiciones de almacenamiento antes y después del tratamiento (Menassa, 1982).

Por otro lado, dentro del contexto nacional el único proceso de transformación que se aplica a los subproductos avícolas es la hidrólisis por cocción, ya sea en cocedores con vapor y presión ó en quemadores de flama directa. La gama de materiales derivados de este tipo de subproductos tales como: harinas, concentrados proteicos, plumas vírgenes y vísceras por separado ó no, se comercializan de dos maneras:

1) La venta de los rastros a los centros de acopio a un precio promedio de \$53 M.N./ Ton de pluma virgen con vísceras y cadáveres (en caso de solicitar algún subproducto por separado, el precio aumenta, \$2 M.N.). Los subproductos transformados se venden en forma de harina en \$1,400 M.N./ ton, (\$37 M.N. costo del proceso), (Mendizabal, APELSA, *com. pers.*, 1996).

2) Algunos rastros ó pequeñas plantas de transformación que producen harinas a partir de estos subproductos las venden para la alimentación animal, a un precio de \$1,800 M.N./ Ton. (Cantú, L., *Materias Primas para Alimentos Pecuarios. com. pers.*, 1996).

Otro tipo de manejo es la transformación ó reciclado de los subproductos en la misma área del rastro avícola para canalizarlos en forma de harina a la alimentación de los pollos. De ésta manera, el reciclado de subproductos permite crear beneficios directos a las empresas que los generan (Sánchez, RASTRO S.A. de C.V. *com. pers.*, 1995), en lugar de ocasionar problemas innecesarios de contaminación y/o representar gastos por su eliminación.

Los precios mencionados son actuales (Enero de 1996), sin embargo están sujetos a la demanda y eventualmente se pueden elevar considerablemente, como ejemplo de ello, ya se mencionó que las harinas de pluma hidrolizadas adecuadamente por el método tradicional tienen menor variabilidad en sus nutrientes, lo que propicia una mayor demanda y precio en el mercado, el cual puede alcanzar de \$200 a 290 U.S. dls. ó de \$ 1,500 a 2,175 M.N. (tipo de cambio, \$7.50 M.N./dolar). El cálculo de los costos se hizo en base al promedio de los precios de la revista semanal Feedstuff, de Febrero/15 y Mayo/17 de 1993.

Con el fin de contar con un parámetro de comparación en la Tabla 6 se presentan los costos de una tonelada de harina de pescado y de harina de pluma hidrolizada por cocción. En esta Tabla se puede apreciar que el costo de la harina de pluma por tonelada representa apenas el 49.39 % del costo de la harina de pescado.

Se ha mencionado en los diferentes capítulos que el procesamiento de la pluma hidrolizada enzimáticamente, requiere de una pre-mezcla enzimática por lo que el costo que alcanza el proceso de transformación de una tonelada de pluma, oscila entre \$50 y 100 M.N. (De Hoyos, APLIGEN, *com. pers.*), (de \$13 a 63 M.N. más caro que el proceso de la hidrólisis por cocción).

TABLA 6. COMPARACION DE COSTOS DE LA PROTEINA DIGESTIBLE DE LA HARINA DE PESCADO Y HARINA DE PLUMA

HARINAS	PROTEINA CRUDA % (Base seca)	COSTO \$M.N./ton	DIGESTIBILIDAD ¹ %	CPPD \$M.N./kg
HARINA DE PESCADO	72.48	3,300	90	5.05
HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION	81.78	1,630	43.2	4.62

➤ \$ M.N., moneda nacional; CPPD, costo por punto de proteína digestible.

1, Los porcentajes de digestibilidad se tomaron de Tacon, G.J.A., (1989) y Castro, *et al.*, (1993).

En la Tabla anterior, los datos de la columna de costo por punto de proteína digestible (CPPD) se ajustaron con el siguiente cálculo:

$72.48 \% \text{ PC} \times 90 \% \text{ de digestibilidad} / 100 = 65.232 \%$, que representan 652.32 kg de proteína digestible en una tonelada de harina de pescado, entonces para obtener el costo por kilogramo de dicha fracción nutricionalmente eficiente, se realizó el cálculo siguiente:

$$\text{\$3,300 M.N.} / 652.32 \text{ kg} = \text{\$5.05 M.N.} / \text{kg de harina de pescado digestible.}$$

Cabe hacer notar que no se conserva el diferencial de la magnitud porcentual entre los costos por tonelada ni de los CPPD's, de ambas harinas (50.60 % diferencia entre los costos por tonelada y 8.51% diferencia entre los CPPD's), por ello observamos que al disminuir la digestibilidad del ingrediente aumenta en consecuencia su costo por kilogramo de proteína digestible. De hecho, en este estudio pretendemos hacer énfasis en el proceso de transformación con miras a mejorar la digestibilidad de la pluma, para que de esta manera sea susceptible de ser incorporada en mayores porcentajes, y así verse reflejado en el costo final del alimento.

Por otro lado, se determinó utilizar en las dietas experimentales del presente estudio un nivel de proteína de 31%. Este porcentaje representa el mínimo requerimiento proteico de *Penaeus vannamei* en nuestras condiciones experimentales (Facultad de ciencias Biológicas, U.A.N.L., 1993). Esto garantizará que los camarones utilicen de forma eficiente la proteína suministrada en el alimento, lo cual, permitirá determinar el aprovechamiento biológico de la proteína de la pluma, la queratina.

La sustitución parcial del porcentaje de inclusión de harina de pescado en las dietas experimentales por los hidrolizados enzimáticos será de un 10% y en una sola dieta se efectuará una sustitución (tan solo con un tratamiento) de un 18%. Estos porcentajes se determinaron después de analizar los resultados sobre valor nutricional obtenidos de estudios que han utilizado harina de pluma hidrolizada por cocción como ingrediente proteico. Es conveniente comentar que la mayor parte de estos estudios han empleado peces como organismos experimentales, eg. Steffens, (1994); Kikuchi, *et al.* (1994); Bishop, *et.al.*(1995). También estos porcentajes garantizan una disminución atractiva del costo del ingrediente proteico (Tablas 6 y 7), lo cual a nivel comercial se vería reflejado en el precio del alimento que contenga, como parte de la proteína, harinas de subproductos avícolas.

Como marco de referencia, en la Tabla 7, se muestra la diferencia del costo entre dos ingredientes proteicos, como son:

1) 100 kg de harina de pescado y

2) 100 kg de harina de pescado combinados con harina de pluma hidrolizada por cocción, a razón de (66:33), respectivamente.

TABLA 7. COMPARACION DE COSTOS DE DOS INGREDIENTES PROTEICOS

INGREDIENTE	CANTIDAD (kg)	N\$ / kg	COSTO TOTAL, \$ M.N.
HARINA DE PESCADO	100	3.3	330.00
HARINA DE PESCADO + HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION	66.67 33.33	3.3 1.63	274.35
			Diferencia, \$ 55.65 M.N.

Observamos que a cantidades iguales de estos ingredientes la diferencia en el costo es de 16.86 %, sin embargo, ésta es susceptible de fluctuar en función de su calidad nutricional y la variación anual de la demanda en el mercado.

En el segundo ingrediente compuesto, el aporte proteico de la harina de pescado es de 72.48% y el de la harina de pluma procesada por cocción es de 81.78%, lo que en proteína total digestible corresponde a 65.23 y 35.33% respectivamente.

La diferencia del costo entre ambos ingredientes proteicos, se magnifica cuando el volumen del alimento que se maneja es considerable, sin embargo, lo anterior está sujeto a los resultados de la tasa de conversión alimenticia, porcentaje de sobrevivencia, tasa de crecimiento, etc; que se demuestren en el presente estudio.

3) OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar el valor nutricional de la pluma cruda de pollo, transformada mediante cocción e hidrólisis enzimática, co-extruidas con pasta de soya.

OBJETIVOS PARTICULARES

1) Determinar las diferencias nutricionales existentes entre los siguientes ingredientes proteicos experimentales: harina de pluma hidrolizada por cocción co-extruida con pasta soya (HPHCex) e hidrolizados enzimáticos de pluma a diferentes tiempos (30, 60 y 120 minutos) co-extruida con pasta soya (HEP30ex, HEP60ex, HEP120ex), como constituyentes de dietas para el camarón blanco del Pacífico, *Penaeus vannamei*.

2) Determinar el tiempo de hidrólisis enzimática al cual deberá de ser sometida la pluma cruda para alcanzar el mayor grado de digestibilidad y que promueva la mejor tasa de crecimiento del camarón blanco del Pacífico, *Penaeus vannamei*.

4) ORIGINALIDAD

La identificación y valorización de fuentes no convencionales de proteína que en función de su eficiencia nutricional y digestibilidad puedan sustituir en cierta medida a la harina de pescado en los alimentos balanceados para la camaronicultura.

Establecer la ruta de transformación de los subproductos avícolas que permita conferirles un valor agregado, dado su rendimiento y calidad nutricional como ingrediente proteico en los alimentos balanceados para la camaronicultura.

5) HIPOTESIS DE TRABAJO

1) Si la harina de pluma hidrolizada por cocción ó el hidrolizado de pluma poseen una cantidad y calidad proteica adecuada, entonces esta fuente de proteína puede ser utilizada como sustituto parcial para reemplazar un porcentaje de la harina de pescado, en los alimentos balanceados para la camaronicultura.

2) Si la tecnología de extrusión es capaz de mejorar las características nutricionales y funcionales de los ingredientes, entonces al ser aplicada a la harina de pluma hidrolizada por cocción y al hidrolizado enzimático de pluma en conjunto con la pasta de soya, se podrá obtener un sólo ingrediente con un perfil de aminoácidos optimizado y con una mejor digestibilidad.

3) Si el tiempo de hidrólisis enzimática influye en el tamaño de los péptidos de la proteína de la pluma, éste factor determinará su utilización nutricional; entonces al controlar éste proceso, se podrán obtener péptidos de un tamaño conveniente para su óptima utilización.

6) MATERIAL

6.1) MATERIAL BIOLÓGICO

- *Penaeus vannamei*, juveniles SPF-High Health de aproximadamente 0.5 g , procedentes de la incubadora GENESIS S.A. de C.V.
- Plumas crudas de pollo de engorda, provenientes del desplumado en un rastro avícola, (Estirpes: *Ross, Schaver, Babcock*)
- Harinas de pluma de pollo hidrolizada por cocción, proporcionada por Darling International Inc.
- Ingredientes diversos para complementar las características nutricionales del alimento balanceado terminado
- Hidrolizados enzimáticos de pluma de pollo

6.2) SALA DE BIOENSAYOS (Programa de Maricultura, FCB, UANL)

Para llevar a cabo el bioensayo se cuenta con una sala que consta de un circuito cerrado, con agua marina artificial, cuya calidad está regulada por un filtro biológico. La sección experimental esta constituida por 48 acuarios de fibra de vidrio que miden 60 x 30 x 35 cm cada uno con capacidad de 60 litros y 3 estanques destinados para preengorda con dimensiones de 1.4 x 1.5 x 0.4 m con una capacidad de 500 litros, además de 6 acuarios cilindro-cónicos de polietileno con un diámetro de 25 cm por una altura de 60 cm y una capacidad de 16 litros. El suministro de aire a los acuarios se realiza mediante un sistema de aireación tipo "Airlift", alimentado por una bomba de aire.

6.3) EQUIPO PARA LOS ANALISIS BROMATOLOGICOS, LA ELABORACION DE LAS DIETAS Y LA MEDICION DE LOS PARAMETROS FISICO-QUIMICOS. (Laboratorio de Nutrición del Programa de Maricultura, FCB, UANL)

- ◆ Analizador LABCONCO para fibra
- ◆ Balanza digital (0.0001) "OHAUS" con capacidad de 400 g.
- ◆ Campana de flujo laminar
- ◆ Digestor y destilador marca TECATOR, para determinación de proteína
- ◆ Espectrofotómetro UV / Visible
- ◆ Estufas eléctricas.
- ◆ Horno eléctrico "Thermolyne", 1500.
- ◆ Soxhlet marca TECATOR, para grasa

(Planta de extensión de procesamiento de alimentos, del Programa de Maricultura, UANL)

- ◆ Balanza electrónica "TO-R-EY"
- ◆ Batidora "Kitchen Aid" con capacidad de 5 litros.
- ◆ Congelador
- ◆ Extrusor Insta-pro (600 Jr).
- ◆ Mezcladora vertical Hobart 80 litros (3 Hp)
- ◆ Molino "Moulinex"
- ◆ Molino de carne "TO-R-EY", (1 Hp.).
- ◆ Turbo molino "Pulvex"
- ◆ Secadora "Shel lab", 1330 FX.
- ◆ Centrífuga con control de temperatura

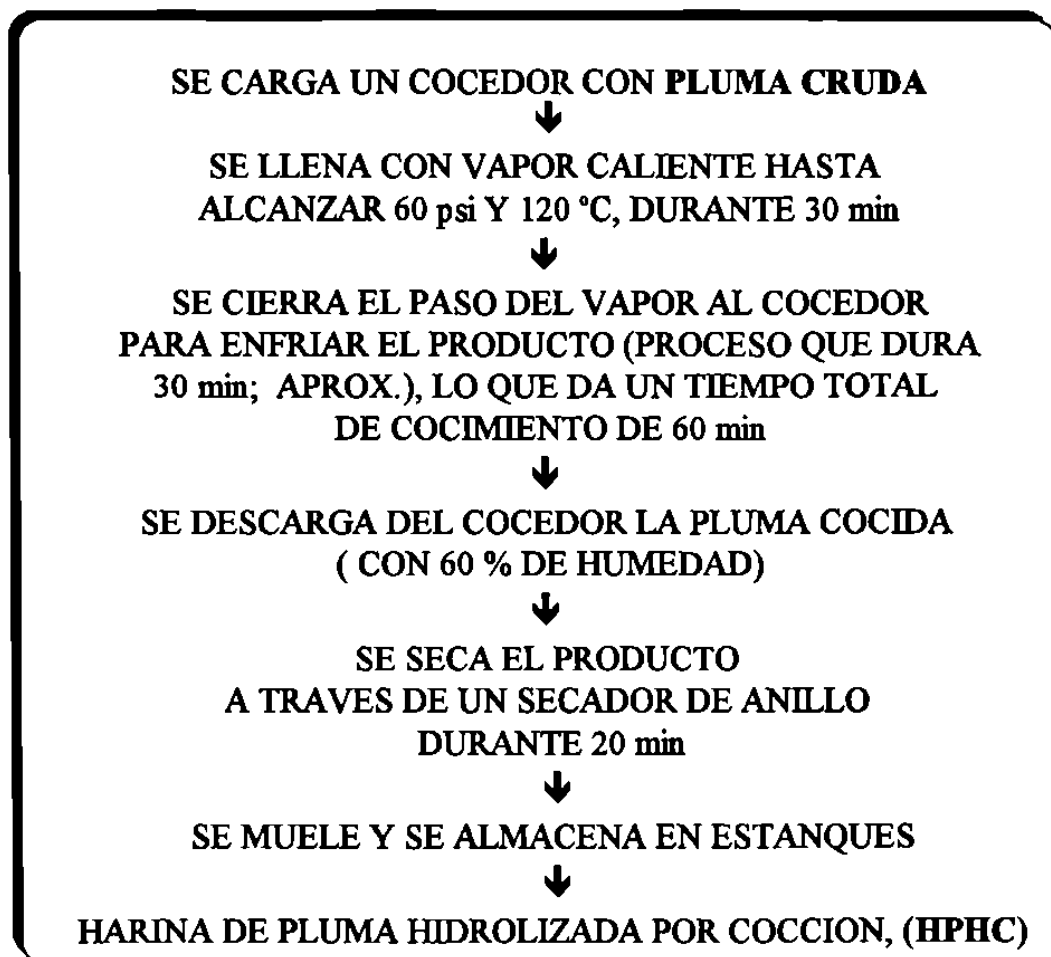
(Laboratorio de Nutrición del Programa de Maricultura, FCB, UANL)

- ◆ Oxímetros
- ◆ Potenciómetro ORION
- ◆ Refractómetro

7) METODOS

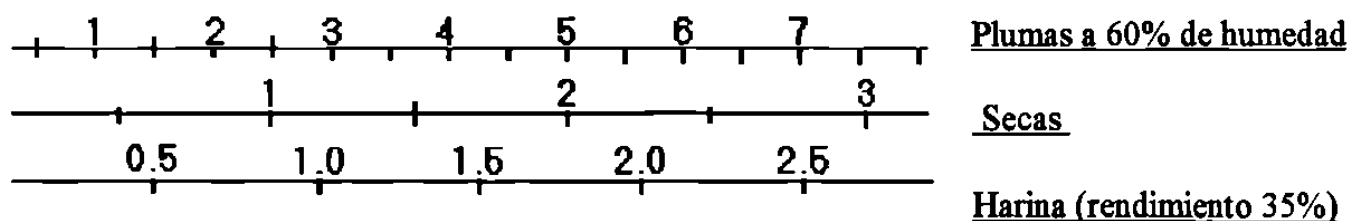
7.1) PROCESO PARA LA OBTENCION DE HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION.

El método de transformación por cocción al vapor implica varias combinaciones de presión, temperatura y tiempo. Este método se aplica de manera rutinaria a la pluma de ave para obtener un ingrediente proteico, como se muestra en el diagrama siguiente:



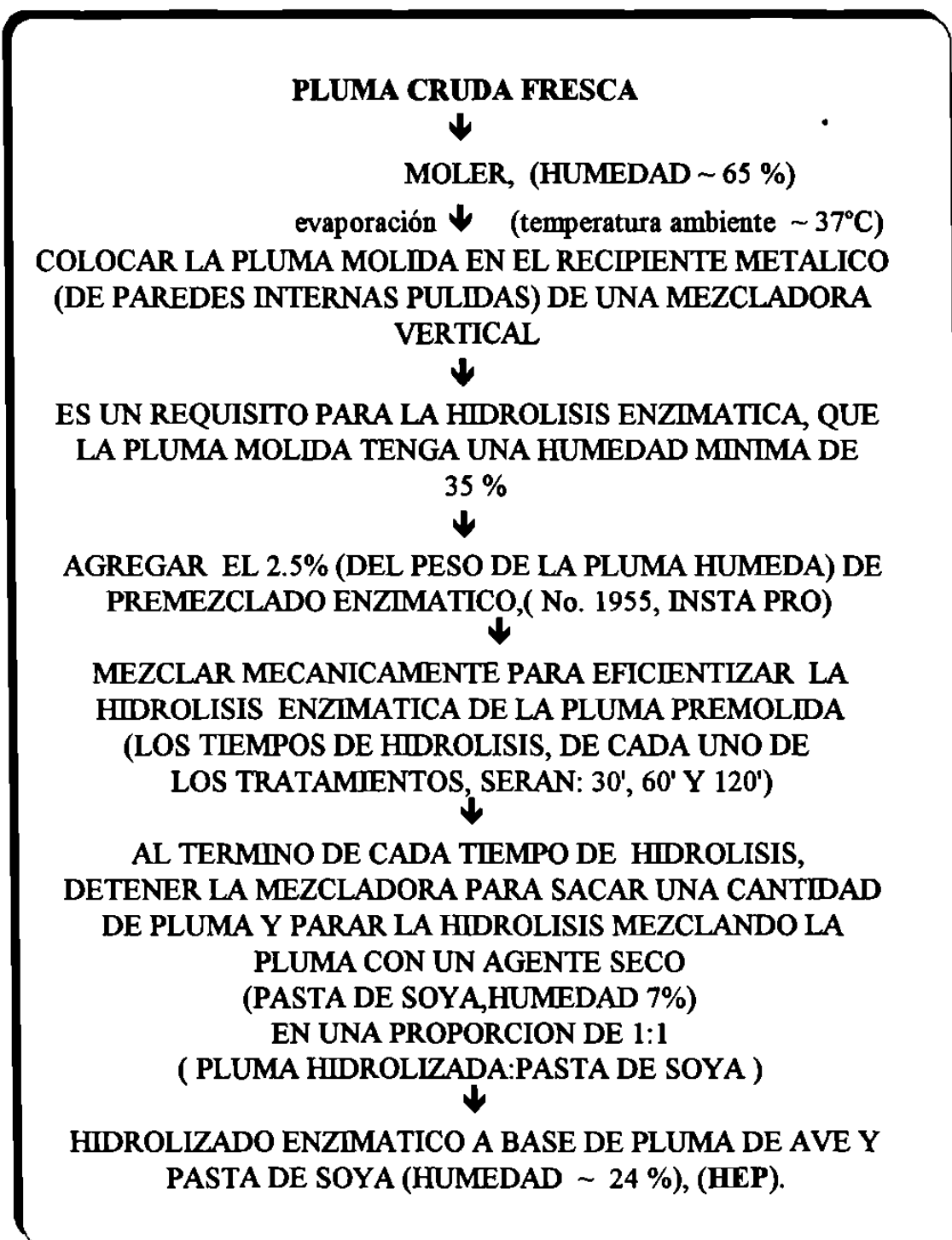
Cabe mencionar que éste proceso se lleva a cabo en las diferentes industrias alimenticias como *Rastro S.A. de C.V.*, N.L. en México y *DARLING INTERNATIONAL INC.*, en E.U.A. De esta última recibimos la harina de pluma hidrolizada por cocción, para ser utilizada en la fase experimental de la presente investigación.

A continuación se presenta una escala de conversión de pluma húmeda en pluma seca y en harina (en Toneladas), con fines de facilitar la apreciación del rendimiento de este tipo de transformación.



7.2) PROCESO PARA LA OBTENCION DE UN INGREDIENTE PROTEICO A BASE DE PLUMA DE AVE, MEDIANTE HIDROLISIS ENZIMATICA

El siguiente diagrama muestra el proceso de hidrólisis enzimática que se siguió para obtener los diferentes ingredientes proteicos constituidos por pluma de ave.

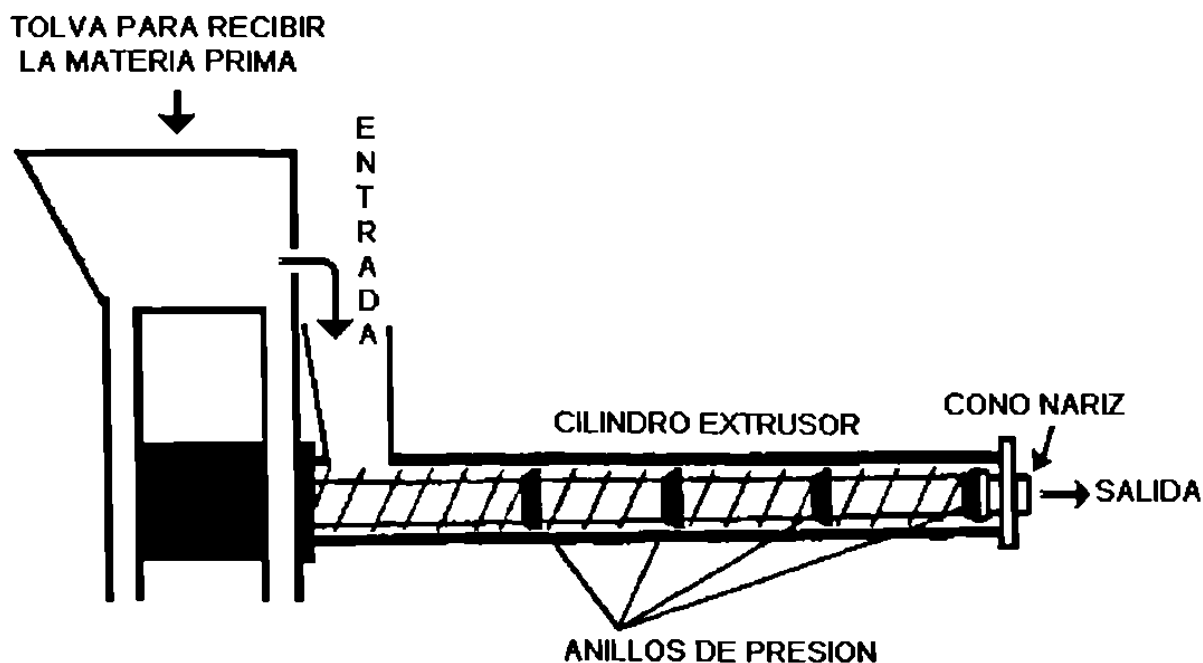


CONFIGURACION Y TEMPERATURAS DEL EXTRUSOR

Los ingredientes proteicos HEP y HPPC fueron precondicionados mediante la técnica de co-extrusión en seco, con miras a aumentar su digestibilidad.

El extrusor es un transformador de materias primas muy versátil que nos permitió mediante la configuración de diferentes anillos de restricción, mantener las condiciones de presión y temperatura (138-148 °C) ideales durante el proceso de transformación. Esta combinación de anillos, es: un anillo de 3 5/8 de pulgada, seguido de tres anillos de 3 3/4 de pulgada y una abertura del cono de salida de 1/2 pulgada. Los anillos de presión se montan en el eje y se comienza con el de mayor diámetro (3 5/8) por el lado donde se inicia el proceso (entrada), ver Figura 2.

FIGURA 2. CORTE LONGITUDINAL DEL CILINDRO DE UN EXTRUSOR QUE MUESTRA LA POSICION DE LOS ANILLOS DE PRESION, DEL CONO NARIZ , LA CONFIGURACION Y LA DIRECCION DEL PROCESO



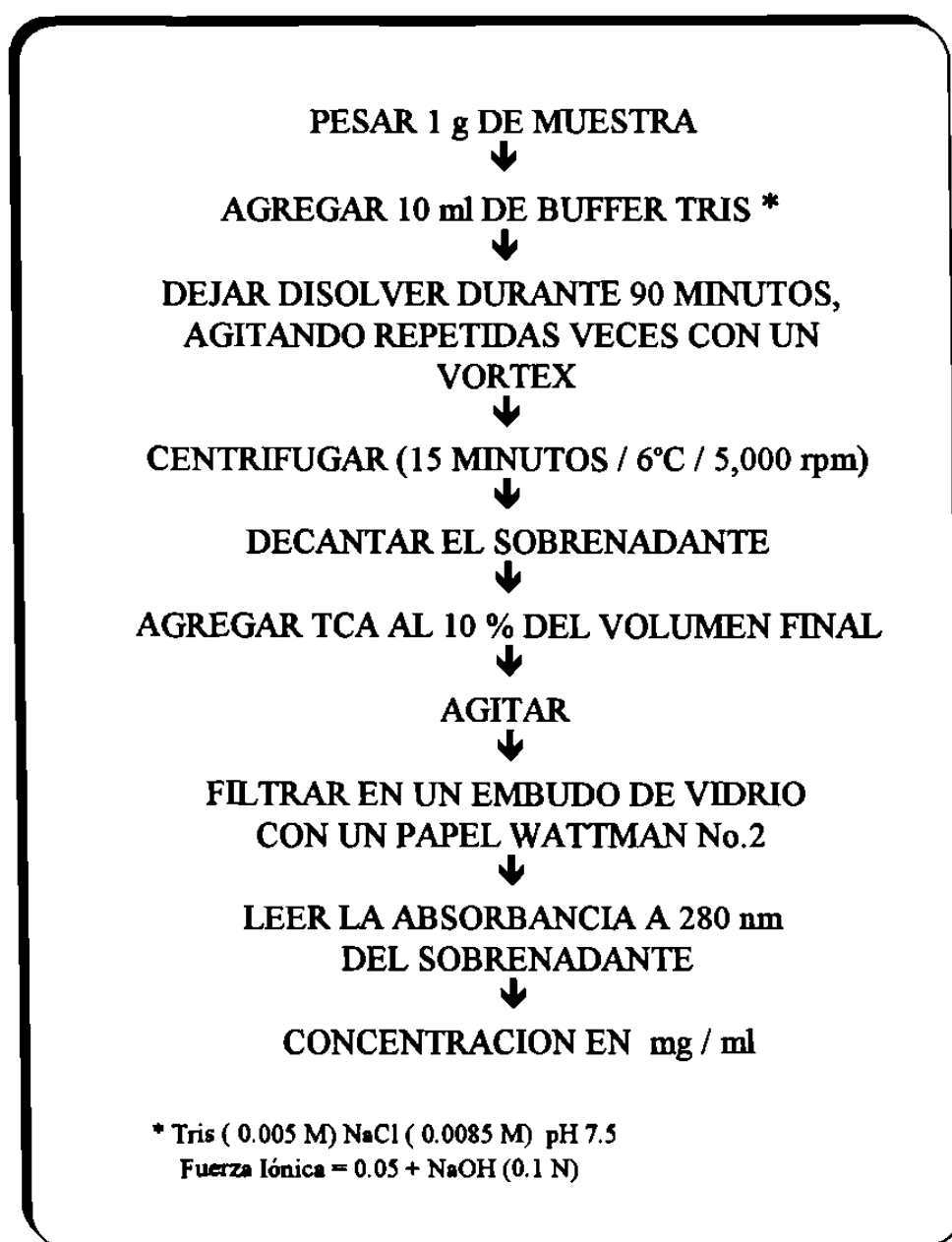
Configuración de los anillos de presión : 3 5/8, 3 3/4 ,3 3/4, 3 3/4 pulgadas

Cono nariz : 1 / 2 pulgada.

Temperatura durante el proceso : 138 - 148 °C (280 - 300 F)

7.4) METODO PARA DETERMINAR LA PROTEINA SOLUBLE

Esta técnica nos permitió conocer el grado de hidrólisis de un sustrato proteico y su principio es la determinación cuantitativa de las especies químicas nitrogenadas (aminoácidos, péptidos de bajo peso molecular y amonio) que han sido producto del rompimiento de los enlaces que las mantienen unidas a los esqueletos moleculares de origen (polipéptidos), por la acción enzimática. El procedimiento de éste método (Pacheco,R., 1995. *comm. pers.*) se describe en el diagrama siguiente y se aplicó a los hidrolizados enzimáticos a diferentes tiempos, la pluma cruda molida, a la pasta de soya y a una mezcla de éstos dos últimos sin extraer, con la finalidad de cuantificar dicha concentración y así tener una medida del grado de la acción hidrolítica que se logró con la premezcla enzimática Insta-Pro al ser aplicado a la proteína de las plumas (Queratina).



7.5) LIXIVIACION

Para determinar la estabilidad del alimento en el agua se aplicó el método propuesto por AQUACOP (1978). Para ello se emplearon canastillas de tela de alambre metálica (con luz de malla de 1.0 mm) de forma cúbica y dimensiones de 4.5 x 4.5 x 8 cm, las cuales se llevaron a peso constante (Pc, con una exactitud de diezmilésimas) sometiéndolas a 70°C en una estufa durante 12 horas. Enseguida se colocó aproximadamente 1.0 g del alimento peletizado (P1, éste peso debe transformarse a base seca para aplicarse en la fórmula). Una vez las canastillas con la muestra se instalan en el aparato de lixiviación para sumergirlas en el agua marina sintética por un periodo de 1 una hora, y someterlas a un constante movimiento ondulatorio de 6 cm de amplitud por cada 12 segundos.

Al término del tiempo predeterminado, las canastillas se sacaron del agua y se dejaron escurrir para calentarlas a 70 °C en una estufa durante 24 horas y así obtener el peso constante (P2); previo enfriamiento en un desecador durante 5 minutos.

La pérdida de peso de los pellets se reporta en porcentaje de la materia seca, especificando el tiempo de inmersión, al aplicar la siguiente fórmula:

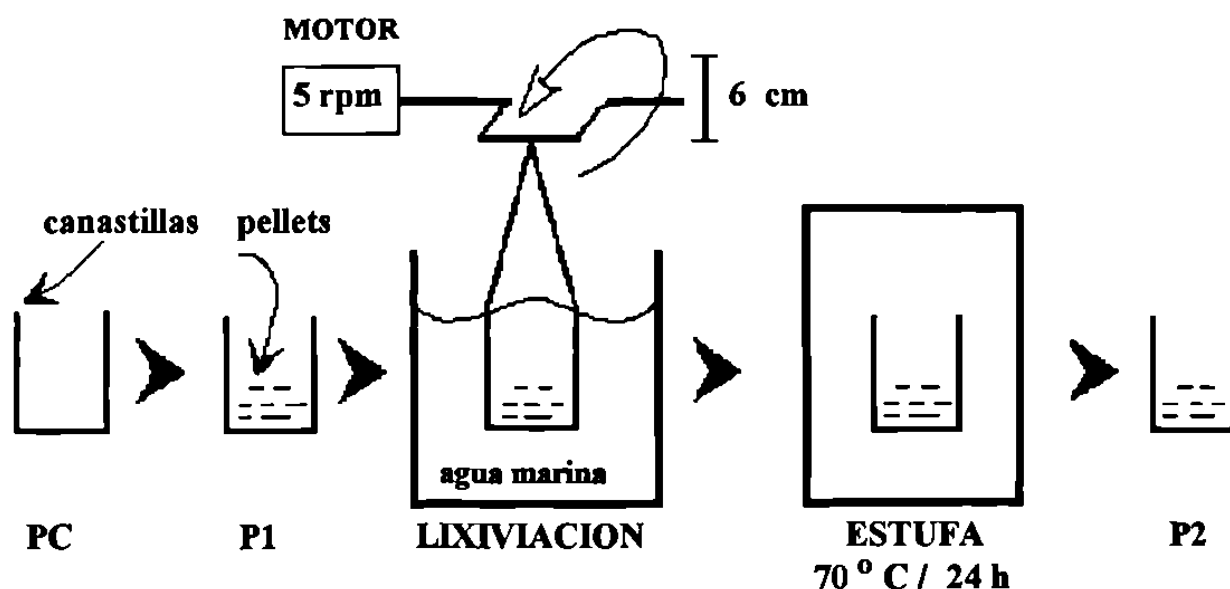
$$\text{Pérdida de materia seca} = \frac{(P1-Pc) - (P2-Pc)}{(P1-Pc)} \cdot \% (1 \text{ h})$$

en donde: Pc = peso canasta seca

P1 = peso canasta + alimento peletizado (en base seca)

P2 = peso canasta + alimento lixiviado seco

Fig. 3. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE PERDIDA DE LA MATERIA SECA DE UN ALIMENTO LIXIVIADO



7.6) FORMULACION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Durante la fase experimental las dietas que se utilizaron fueron isolípídicas e isoprotéicas (31%), con el propósito de comparar los resultados de cada dieta.

Para determinar las cantidades de los ingredientes que se emplearon en las formulaciones se utilizaron los resultados de los análisis de nutrientes de cada ingrediente (Tabla 8). El cálculo cuantitativo de los ingredientes de cada fórmula se realizó con ayuda del programa *Excel*.

TABLA 8. PARAMETROS CONSIDERADOS EN LOS ANALISIS BROMATOLOGICOS DE LOS INGREDIENTES Y LAS DIETAS

PARAMETRO	METODO
➤ Humedad	➤ Calentamiento a 60° C / 24 h
➤ Proteína	➤ Nitrógeno total ¹
➤ Lípidos	➤ Extracción con éter / 68° C / 1 h ²
➤ Fibra cruda	➤ Digestibilidad ácida y básica
➤ Ceniza	➤ Incineración (600° C / 24 h)
➤ Digestibilidad	➤ <i>In vitro</i> ³
➤ Estabilidad	➤ Lixiviación de la materia seca

1) Micro-Kjeldahl, para convertir el nitrógeno total a porcentaje de proteína cruda se utilizará el factor de 6.25

2) Con un aparato tipo Soxhlet

3) Con Tripsina de páncreas porcino (Tipo IX), Tripsina de páncreas bovino (Tipo XI) y "*Hepatopancreatina*" del hepatopáncreas de camarón

DIETAS QUE SE UTILIZARAN EN EL BIOENSAYO DE CRECIMIENTO

Los objetivos primordiales a determinar, tomando como criterios los señalados en la Tabla 9, son :

- El tiempo óptimo de hidrólisis enzimática de la pluma que promueva el mejor crecimiento,
- La identificación de la técnica de procesamiento (hidrólisis por cocción y la hidrólisis enzimática) que le confiera una adecuada digestibilidad.

Para obtener los ingredientes proteicos experimentales se realizaron los procedimientos descritos en las secciones 7.2 y 7.3, y el nivel de inclusión en las dietas fue de 9 a 18 %. Del resto de los ingredientes (Tabla 10) variaron algunos (la harina de trigo, pasta de soya, celulosa, aceite de pescado, fosfato monosódico y la mertionina) debido a los ajustes durante la formulación. El resto de éstos se incluyeron en cantidades constantes para que las variaciones de los parámetros a medir sean causadas únicamente por las harinas de los subproductos.

TABLA 9. PARAMETROS ZOOTECNICOS QUE SE CONSIDERARON EN EL BIOENSAYO DE CRECIMIENTO

PARAMETRO	FORMULA
GANANCIA EN PESO	$GP = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$
TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA	$TCA = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{peso del organismo (g)}}$
RAZON DE EFICIENCIA PROTEICA	$PER = \frac{\text{incremento del peso (g)}}{\text{proteína ingerida (g)}}$
PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA	$S = \frac{\text{No.de camarones al inicio} - \text{No.de camarones al final}}{\text{No.de camarones al inicio}} \times 100$
PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	$Dig VT = \frac{\text{pendiente de la proteína experimental}}{\text{pendiente de la proteína de referencia}} \times 100$
ALIMENTO CONSUMIDO EN 30 DIAS (CORREGIDO POR MORTALIDAD)	$AC = \frac{\text{g de A. S.} - (\text{g de A. S.} \times \% \text{ de A. recolectado})}{\text{número de individuos}}$

➤ A.S., alimento suministrado

De manera adicional se llevó a cabo el monitoreo de parámetros hidrológicos para determinar la calidad del agua, como son: pH (potenciómetro), oxígeno disuelto (oxímetro), salinidad (refractómetro) y material colorimétrico para la determinación de amonio, nitritos y nitratos.

En la Tabla 10, a manera de ejemplo, se enlistan los porcentajes de inclusión de los ingredientes más comúnmente empleados en el alimento para camarón (Cruz, S., 1990), los que de manera semejante se adaptaron en las formulaciones de la presente investigación.

TABLA 10. INGREDIENTES DE UNA DIETA COMUN PARA CAMARON

INGREDIENTES	PORCENTAJES *
HARINA DE PESCADO	10 - 40
PASTA DE SOYA	5 - 25
HARINA DE CAMARON	4 - 10
GLUTEN DE TRIGO	5 - 15
HARINA DE TRIGO	3 - 8
ACEITE DE PESCADO Y LECITINA	1.5 - 3.5
SOLUBLES DE PESCADO	2 - 5
MEZCLA VITAMINICA	1
VITAMINA 'C'	0.05
DL-METIONINA	0.5
CLORURO DE COLINA	0.5
COLESTEROL	0.5
INOSITOL	0.2 - 0.6
MEZCLA DE MINERALES TRAZA	1
FOSFATO MONOSODICO	2 - 2.8

* Rango de utilización de los ingredientes

7.7) METODO PARA EVALUAR LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LAS DIETAS

Con la finalidad de simular la acción fisiológica de la principal proteasa hepatopancreática de los camarones se probaron dos enzimas comerciales Tripsina (Tipo IX) del páncreas porcino, Tripsina (Tipo XI) del páncreas bovino, así como un extracto enzimático del hepatopáncreas de camarón, no comercial, denominado "*hepatopancreatina*" (graciosamente donado por la Dra. Olimpia Carrillo). Lo anterior se llevó a cabo para establecer un sistema de digestibilidad *in vitro* que nos permitió prescindir de la tripsina homóloga de *Penaeus vannamei*, ya que su obtención implica la colecta de una cantidad importante de hepatopáncreas, su aislamiento y purificación.

Los ensayos de digestibilidad con éstas enzimas se aplicaron por duplicado a la dieta control, a cada una de las dietas experimentales (HPE30ex, HPE60ex, HEP60EX2, HPE120ex2 y HPHCex) así como a dos dietas¹ que Nieto (1995) les determinó su digestibilidad con la técnica de digestibilidad *in vivo* y a una proteína estándar (albúmina de bovino) que sirvió como punto de referencia (100%) para estimar la digestibilidad *in vitro* de las dietas mencionadas.

¹ Estas dos dietas se incluyen con la finalidad de determinar el sistema enzimático que presente el mayor grado de relación entre ambas técnicas *in vivo* e *in vitro*. Con esto, se busca un método rápido y menos oneroso que estime con un alto grado de efectividad la digestibilidad aparente de las dietas ó ingredientes de interés.

La estimación de la digestibilidad *in vitro* fue efectuada por el sistema pH-shift, de acuerdo al protocolo descrito por Lazo (1994) y modificado por el Dr. R.Mendoza A. y el Ocean. A.De Dios U. en 1995, el cual se describe a continuación:

**MUESTRA DE HARINA DE PLUMA
FINAMENTE MOLIDA**



**50 ml DE SOLUCION PROTEICA (5.0 mg de proteína /ml)
AJUSTAR EL pH ENTRE 8.0 - 8.4
AGREGAR LA MUESTRA PREVIAMENTE PESADA Y
ASI DEJARLA HIDRATAR ENTRE 60 Y 90 MINUTOS
A TEMPERATURA AMBIENTE.
AGITAR DE VEZ EN CUANDO.**



**SOLUCION ENZIMATICA (3.1 mg de Tripsina / ml)
AJUSTAR EL pH A 8.0 A TEMPERATURA AMBIENTE
(CONSERVAR EN UN BAÑO DE HIELO)**



**AGREGAR 5 ml DE SLON. ENZIMATICA A LA
SLON. PROTEICA Y LEER EL pH INICIAL**



**MANTENER LA MEZCLA EN CONSTANTE AGITACION
EN UN BAÑO MARIA (37°C) Y SIMULTANEAMENTE
REGISTRAR LA CAIDA DEL pH CADA MINUTO CON UN
POTENCIOMETRO DIGITAL, DURANTE UN LAPSO DE
10 MINUTOS.**



**COMPARAR LAS PENDIENTES DE LAS
REGRESIONES MEDIANTE UNA PRUEBA "t"
CONSIDERANDO UNA PROTEINA ESTANDAR
(ALBUMINA DE BOVINO)**



**CALCULO DEL PORCENTAJE DE
DIGESTIBILIDAD *IN VITRO*, (Tabla 9)**

7.7.1) ESTANDARIZACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

Con la finalidad de comparar los productos de la reacción de las diferentes enzimas se consideraron la actividad de éstas, medidas en unidades BAEE / mg de proteína. Para ello se tomó como referencia la actividad que presentaba la Tripsina porcina (Tipo IX) realizándose los cálculos que se presentan a continuación:

Enzima	BAEE / mg de proteína	Promedio	mg de Enzima	Actividad en 5 ml
Tripsina porcina	13,000 a 20,000	*16,500	EN 3.1 mg	255,750
Tripsina bovina	6,000 a 9,000	7,500	EN 6.82 mg	255,750
Hepatopancreatina (camarón)	8,000	8,000	EN 6.39 mg	255,750

Considerando que 5.0 ml contienen 15.5 mg de Tripsina Tipo IX (3.1 mg / ml), equivalentes a 255,750 BAEE / mg de proteína, entonces para ajustar los mg de Tripsina Tipo XI y así estandarizar las unidades, hacemos:

$$\frac{16,500}{7,500} \times 3.1 = 6.82 \text{ mg de Tripsina Tipo XI}$$

7.8) TIEMPO DE TRANSITO

Una medida práctica pero indirecta de la digestibilidad de un alimento es el tiempo que transcurre desde el momento en que el camarón comienza a dilacerar el pellet hasta que aparece el primer indicio de heces fecales.

Este método se aplicó al grupo de dietas experimentales siguiendo el protocolo que a continuación se describe:

Se eligieron cuatro camarones de peso homogéneo y se alimentaron *ad libitum* con la dieta control (DC) a base de harina de pescado durante tres días, después se sometieron por un período de 48 horas a inanición con el objeto de eliminar los restos del alimento en el tracto digestivo cuidando que el fondo del acuario no tenga heces ya que los camarones las consumen. Al tercer día se inició la alimentación midiendo el tiempo de tránsito de cada uno de los camarones, los cuales representan las unidades ó replicados. Esta medida puede presentar una relación inversa a la digestibilidad *in vivo* (Mendoza, R., *com.pers.*).

Adicionalmente se buscó el grado de correlación que guarden los valores de tiempo de tránsito de las dietas experimentales y la dieta control con los valores obtenidos mediante la aplicación de la técnica de digestibilidad *in vitro*, la cual se describe en la Sección 7.7.

7.9) DISEÑO EXPERIMENTAL

En el experimento se probó un total de cinco dietas experimentales, como son : las que contendrán alrededor de un 15 % de los hidrolizados enzimáticos de pluma (HEPex) a diferentes tiempos (60 y 120 minutos) (HEP60ex y HEP120ex), una dieta con 18 % de HPE60ex (HPE60ex2), una dieta con 10% de harina de pluma hidrolizada mediante el método de cocción a presión-vapor y una dieta control (DC) con un 20 % de harina de pescado. En la Tabla siguiente se muestran los porcentajes aproximados de inclusión de los ingredientes en cada una de las dietas.

TABLA 11. PORCENTAJES DE INCLUSION DE LA HARINA DE PESCADO, HIDROLIZADOS ENZIMATICOS Y LA HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES O TRATAMIENTOS

FUENTES DE PROTEINA	DIETAS EXPERIMENTALES O TRATAMIENTOS				
	DIETA CONTROL	HEP60ex	HEP120ex	HPE60ex2	HPHCex
HARINA DE PESCADO	20 %	15 %	15 %	10 %	15 %
HIDROLIZADOS ENZIMATICOS		10%	10%	18 %	
HARINA DE PLUMA HIDROLIZADA POR COCCION					10%

➤ HEP60ex, hidrolizado enzimático de pluma de 60 minutos co-extruido con pasta de soya, etc.

En cada unidad experimental se utilizaron 60 juveniles *Penaeus vannamei* de un peso promedio de 0.32 de gramo, repartidos en cuatro acuarios ó replicados, dentro de un diseño experimental de bloque en donde los tratamientos fueron distribuidos completamente al azar. Para este fin se sortearon los acuarios que fueron asignados a cada replicado.

Para definir los distintos grupos se peso cada camarón para construir una tabla de frecuencias y así se agrupó la clase de talla más abundante. De ésta manera logramos tallas homogéneas de camarón, en cada acuario.

La densidad inicial fue de 0.1 g / litro en cada uno de los 30 acuarios de 60 litros (15.85 gal) y 0.18 m². La porción de alimento diaria se distribuyó en dos raciones, para simular las condiciones de un cultivo comercial. El bioensayo de crecimiento se llevó a cabo durante un lapso de 30 días.

7.10) ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la etapa experimental de crecimiento fueron analizados por medio de un (ANOVA), en caso de encontrar diferencias significativas ($p < 0.05$) se procedió a separar las medias utilizando el test de Duncan (*New Duncan's Multiple Range Test*).

Por otro lado, en lo que respecta a los datos obtenidos mediante la técnica de *pH-shift*, estos fueron sometidos a una regresión logarítmica y las pendientes resultantes fueron comparadas mediante el análisis de dos regresiones independientes. Para éste fin se aplicó la formula siguiente, (Steele y Torrie, 1985) :

$$t \text{ calc} = \frac{b_1 - b_2}{(S^2_p [1/\Sigma (X_{j1}-X_1)^2 + 1/\Sigma (X_{j2}-X_2)^2])^{1/2}}$$

en donde b_1 y $\Sigma_j (X_{j1}-X_1)^2$ son el coeficiente de regresión (pendientes) y la suma de cuadrados para X de la primera muestra, y de forma similar para la segunda muestra, el término S^2_p se calcula de la siguiente manera :

$$S^2_p = \frac{\{ \Sigma (Y_{j1}-Y_1)^2 - [\Sigma (X_{j1}-X_1)(Y_{j1}-Y_1)]^2 / \Sigma (X_{j1}-X_1)^2 \}}{(n_1 - 2) + (n_2 - 2)} + \frac{\{ \Sigma (Y_{j2}-Y_2)^2 - [\Sigma (X_{j2}-X_2)(Y_{j2}-Y_2)]^2 / \Sigma (X_{j2}-X_2)^2 \}}{(n_1 - 2) + (n_2 - 2)}$$

A fin de probar estadísticamente la similitud de los datos de porcentaje de digestibilidad *in vitro* e *in vivo* (éstos últimos proporcionados por Nieto, M., 1995.), fueron sometidos a un ANOVA y a un análisis de correlación. De ésta misma manera fueron analizados los datos de tiempo de tránsito y los de digestibilidad *in vitro*.

En el caso de los datos porcentuales (porcentaje de sobrevivencia) fueron transformados mediante $\arcsen[\%]^{1/2}$, (Steele y Torrie, 1985), a fin de normalizarlos y así tratarlos de manera paramétrica.

8) RESULTADOS

8.1) ADQUISICION Y TRANSFORMACION DE LA PLUMA CRUDA

Las plumas crudas se adquirieron gracias al apoyo de la empresa *Rastro S.A. de C.V.*, en esta localidad. En la planta se preacondicionan los pollos para ser desplumados sometiendolos a un baño caliente (64 a 67 °C) durante un minuto, enseguida pasan al desplumador automático tipo "dedos de hule" de donde se originan como subproducto montones de plumas. De estos se tomaron muestras en bolsas de plástico para trasladarlas al laboratorio del Programa de Maricultura (Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L.) y drenarlas en un lapso no mayor a los 45 minutos.

8.1.1) MOLIENDA E HIDROLISIS ENZIMATICA.

Conforme al método descrito en la sección 7.2, se procedió a la molienda de la pluma (humedad, 65%) con un molino para carne, la abertura del cedaso utilizanda fue de 1.2 cm . Bajo estas condiciones se obtuvo un rendimiento aproximado de 8.0 kg / h (5.2 kg en base seca).

Durante este procedimiento la fricción de las plumas con las partes internas del molino elevó la temperatura (medida a la salida del cedaso) de 64 a 70°C, y de manera muy eventual hasta los 78°C, ocasionando una reducción de la humedad de la pluma a 37 % con evaporación continua. El tiempo finalmente transcurrido entre el desplumado y el final de la molienda no fue mayor de 120 minutos.

Para realizar la reacción de hidrólisis enzimática se colocó la pluma molida (con un 40% de humedad) en el recipiente de la mezcladora para agregarle un 5% del premezclado enzimático en polvo (forma de presentación de la premezcla), en lugar de 2.5% como lo recomienda la guía de utilización del producto.

8.1.2) CO-EXTRUSION.

Para asemejar este procedimiento a uno de escala industrial se mantuvo ininterrumpido el desarrollo de la transformación, para ello, previo a la molienda se ensambló sobre el eje del extrusor la configuración mencionada en la Sección 7.3. Así, una vez molida la pluma, hidrolizada y mezclada con pasta de soya se procedió al precalentó del extrusor, al pasar de dos a tres veces una cierta cantidad de frijol de soya por el cilindro (ver Fig. 2), para llevar a cabo la co-extrusión de los cuatro tratamientos (HEP30ex, HEP60ex, HEP120ex y HPHCex). Para que este proceso influyera de igual manera sobre cada uno de los tratamientos, se mantuvieron las condiciones dentro de los rangos que se señalan en la siguiente Tabla.

TABLA 13. RANGOS DE LAS CONDICIONES DURANTE LA CO-EXTRUSION.

TEMPERATURA DE SALIDA (°C)	130 - 140
AMPERAJE DE OPERACION (Amp)	60 - 63
VELOCIDAD DEL DOSIFICADOR (RPM)	40 - 75
RENDIMIENTO (kg / h)	208

Una vez obtenidos los diferentes tratamientos se etiquetaron y se dejaron secar durante 48 horas a temperatura ambiente.

8.2) ANALISIS DE LOS INGREDIENTES.

En la siguiente Tabla se muestran los valores obtenidos de los análisis (Tabla 8) aplicados a los ingredientes experimentales. De manera general se observan diferencias evidentes en la composición nutricional del ingrediente HPHCex, en particular con un elevado contenido de lípidos (16.1352%) y un bajo contenido de humedad (0.7685%), en comparación con el resto de los ingredientes. Por otro lado el nivel de proteína de los ingredientes muy aceptable tomando en cuenta que arriba del 20% se considera bueno.

TABLA 14. COMPARACION DE LOS PORCENTAJES PROMEDIO DE LA COMPOSICION NUTRICIONAL DE LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES (BASE SECA).

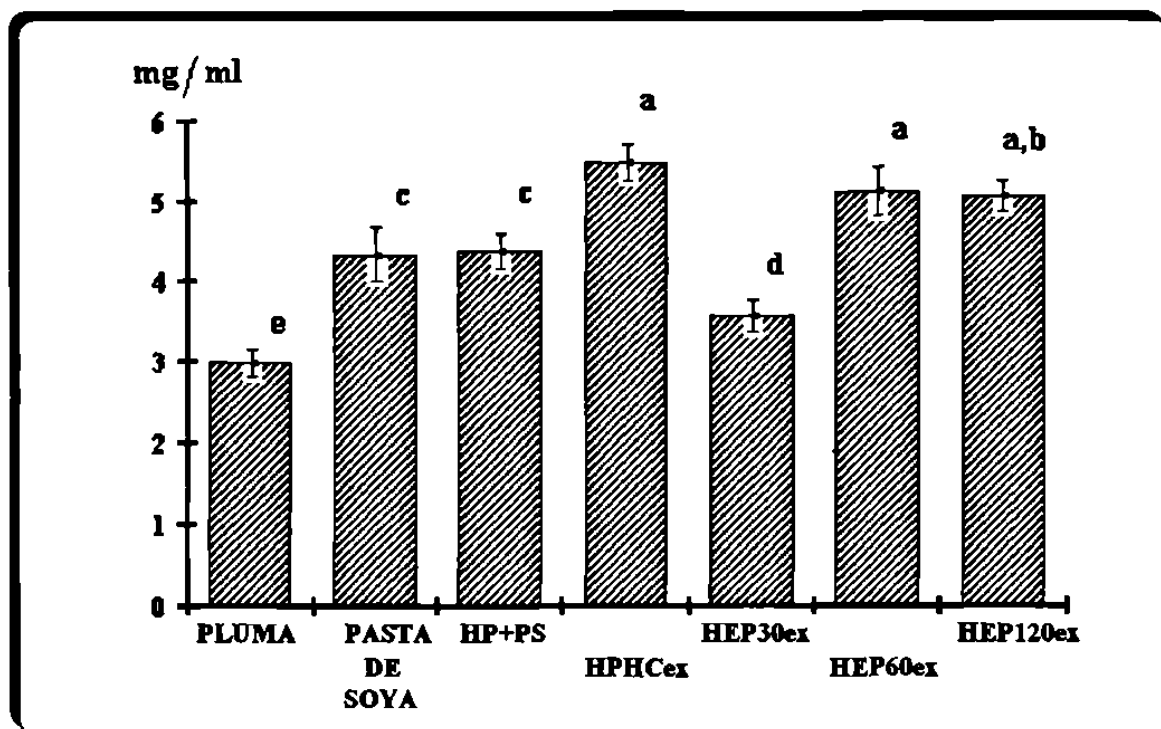
INGREDIENTES EXPERIMENTALES	PROTEINA CRUDA	LIPIDOS %	FIBRA %	CENIZA %	ELN %	HUMEDAD %
HEP30ex	61.464 ± 1.427	1.645 ± 0.119	2.505 ± 0.752	10.925 ± 0.123	12.941	10.520 ± 0.1653
HEP60ex	60.938 ± 0.356	1.443 ± 0.168	2.505 ± 0.752	9.91 ± 0.046	16.428	8.777 ± 0.302
HEP120ex	59.992 ± 0.615	1.426 ± 0.147	2.505 ± 0.752	10.471 ± 0.108	16.733	8.873 ± 0.135
HPHCex	50.319 ± 2.468	16.135 ± 0.074	1.854 ± 0.277	4.52 ± 0.17	27.669	0.769 ± 0.0734

- El aporte teórico del resto de los ingredientes se muestra en el Anexo 1.
- El número superior es el promedio de tres replicados y el número inferior es la desviación estándar
- HEP30ex, hidrolizado enzimático de 30 minutos, co-extruido con pasta de soya;
- HPHCex, harina de pluma hidrolizada por cocción y co-extruida con pasta de soya
- Los análisis de los nutrientes realizados en el Lab. de Nutrición, FCB, UANL. se muestran en el Anexo 8.

8.2.1) GRADO DE HIDROLISIS.

El grado de solubilidad de los compuestos nitrogenados (aminoácidos, péptidos pequeños y/o radicales amino) es un indicador directo del grado de hidrólisis de una proteína. Asumiendo este principio se aplicó el método descrito en la Sección 7.4 a los diferentes sustratos. La comparación estadística de los resultados de las concentraciones (mg/ml) mostró diferencias significativas ($F=96.9723$; $6,63$; $p=0.0000$), (Fig. 4).

FIGURA 4. COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES PROMEDIO (mg/ml) DE LA PROTEINA SOLUBLE, ENTRE: LA PLUMA MOLIDA, PASTA DE SOYA, LA PLUMA MOLIDA COMBINADA CON PASTA DE SOYA (1:1) SIN EXTRUIR Y LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES CO-EXTRUIDOS



➤ HP + PS, harina de pluma más pasta de soya (1:1) sin co-extruir.

➤ Las literales iguales denotan grupos homogéneos (sin diferencias significativas), de lo contrario si existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Además, en esta figura, se observa el grado tan pobre de hidrólisis que se obtuvo en el tratamiento de 30 minutos (HEP30ex) lo cual se refleja en la escasa liberación de radicales amino, en comparación con el resto de los tratamientos. Al advertir lo anterior se eliminó del grupo de los ingredientes experimentales. Así fue entonces, que el grupo de los tratamientos quedó constituido de la siguiente manera:

- 1) Dieta control,
- 2) Hidrolizado enzimático de pluma durante 60 minutos, co-extruido con pasta de soya (HEP60ex),
- 3) Hidrolizado enzimático de pluma durante 60 minutos, co-extruido con pasta de soya, incluido en una doble proporción (HEP60ex2),
- 4) Hidrolizado enzimático de pluma durante 120 minutos, co-extruido con pasta de soya (HEP120ex),
- 5) Harina de pluma hidrolizada por cocción, co-extruida con pasta de soya (HPHCex).

8.3) ANALISIS Y FORMULACION DE LAS DIETAS

Con los análisis (Tabla 8) de los ingredientes experimentales se los calcularon los porcentajes de inclusión de las formulas. En la siguiente Tabla se presentan los resultados de los análisis y composición de las dietas experimentales, así como la comparación estadística.

TABLA 15. PORCENTAJE PROMEDIO DE LA COMPOSICION NUTRICIONAL Y FORMULAS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (BASE SECA)

NUTRIENTES	DIETA CONTROL	HEP60ex	HEP60ex2	HEP120ex	HPHCex
PROTEINA CRUDA %	31.4763 ± 0.1187 a	30.8516 ± 0.0816 b	29.6270 ± 0.0656 c	31.0353 ± 0.1385 a	31.7113 ± 0.0215 a
LIPIDOS %	6.1332 ± 0.1081 a	5.9778 ± 0.0710 a	6.0854 ± 0.0386 a	6.3699 ± 0.0751 a	7.2780 ± 0.0753 b
HUMEDAD %	3.3168 ± 0.1946	4.0199 ± 0.2387	4.5216 ± 0.3791	3.6277 ± 0.1866	3.5090 ± 0.0524
% PERDIDA DE MATERIA SECA (1 h)	7.5565 ± 2.220 a	5.2069 ± 2.6173 a	8.5806 ± 2.2046 a	6.8627 ± 1.0247 a	6.3881 ± 0.4829 a
pH	7.58	7.625	8.305	7.625	7.583
INGREDIENTES (%)					
HEP60ex	-	9	18	-	-
HEP120ex	-	-	-	9.07	-
HPHCex	-	-	-	-	13.7
H. PESCADO	18.4	14.56	10.49	14.56	14.56
H. CAMARON	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3
H. TRIGO	48.3	47.55	47.12	47.49	45.4
GLUTEN DE TRIGO	4	4	4	4	4
PASTA DE SOYA	17	12.3	7.8	12.3	12.3
CELULOSA	1.988	1.99	1.99	1.981	1.99
Ac. DE PESCADO (Menhaden)	2.5	2.58	2.58	2.58	1
LECITINA DE SOYA	2	2	2	2	1.15
MEZCLA VIT.	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
ETOXIQUIN	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
COLESTEROL	0.54	0.59	0.59	0.59	0.59
INOSITOL	0.031	0.031	0.03	0.031	0.03
NaH ₂ PO ₄	0.4	0.458	0.603	0.458	0.603
VITAMINA C	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
DL-METIONINA	0.2	0.3	0.217	0.3	0.217
CLORURO DE COLINA	0.076	0.076	0.076	0.076	0.076
TOTAL	100	100	100	100	100

- Las literales iguales denotan grupos homogéneos (sin diferencias significativas), de lo contrario si existen diferencias significativas ($p < 0.05$).
- El número superior es el promedio de tres replicados y el número inferior es la desviación estándar.
- El aporte teórico de nutrientes de las dietas se muestran en los Anexos 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

La comparación estadística del contenido nutricional de las dietas revela diferencias significativas entre los niveles de proteína de las dietas HEP60ex y HEP60x2ex ($F=13.5043$; 4,21; $P=0.0000$) y, entre los niveles de lípidos de las dietas HPHCex y HEP120ex ($F=5.8619$; 4,10; $P=0.0495$) en comparación con el resto del grupo, por lo tanto este no resultó ni isoprotéico ni isolípido en un 20%. Cabe mencionar que para el ajuste de las formulas fue necesario variar el nivel de inclusión de algunos ingredientes, tal como se observa con la harina de trigo, la pasta de soya, la celulosa, el aceite de pescado, la metionina y el fosfato monosódica.

Por otro lado, en la misma Tabla, se puede observar que no existen diferencias entre los porcentajes de pérdida de materia seca del grupo de las dietas, como lo muestran las literales.

Es pertinente comentar que a raíz del pH relativamente ácido de la mezcla de ingredientes, previo al peletizado, se decidió agregar una solución de Hidróxido de Sodio diluida con la finalidad de alcanzar un pH acorde al de el tracto intestinal de *Penaeus vannamei* (Tabla 15).

8.4) BIOENSAYO DE CRECIMIENTO

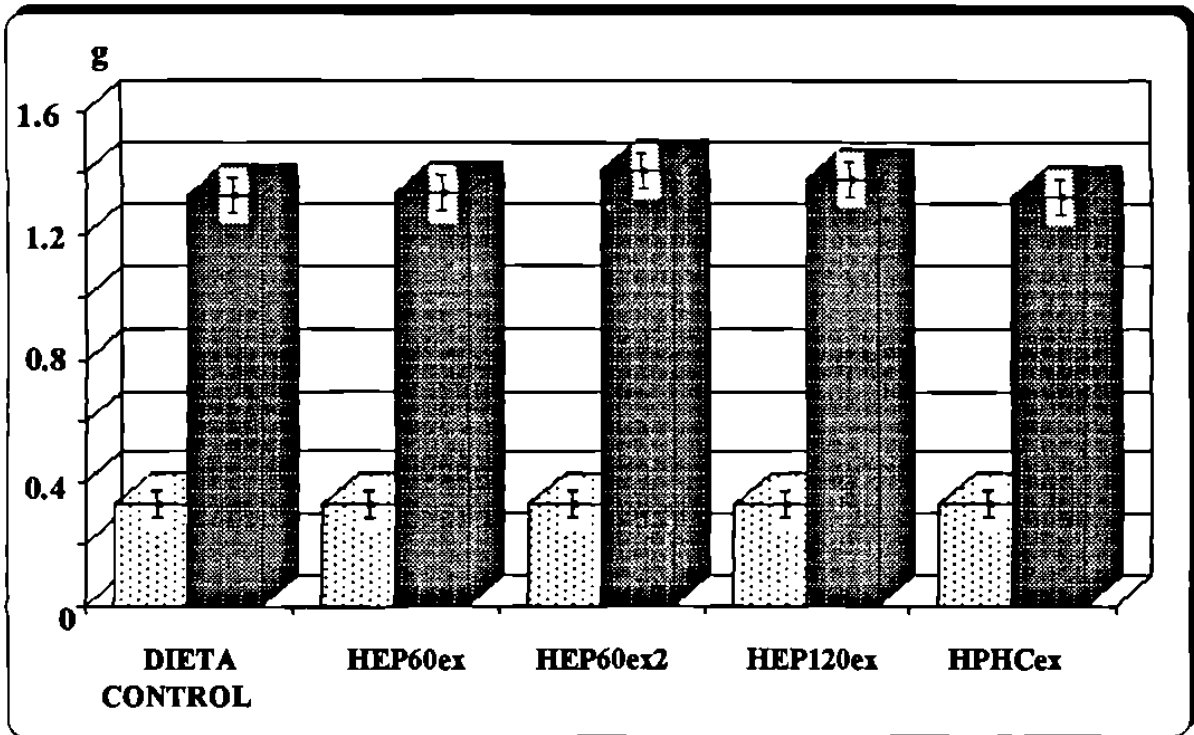
Una semana antes del inicio del bioensayo de crecimiento se recibió un grupo de 2,000 postlarvas de *Penaeus vannamei*, procedentes de la Granja camaricultora "Genensis", Pto. Peñasco, Sonora. Enseguida las postlarvas se aclimataron, presentando un bajo porcentaje de mortalidad ($< 1\%$).

La alimentación durante el período de aclimatación se realizo dos veces al día (9:00 y 18:00 Hrs.) con la dieta control, suministrando un 10% de la biomasa. Al sexto día se procedió a la biometría inicial la cual consistio en el pesado de las postlarvas, obteniendo así el promedio del grupo (0.332 g), enseguida se repartieron estas con un peso no mayor a una desviación estándar para constituir tratamientos equivalentes.

Con la finalidad de seguir de cerca el desarrollo del crecimiento de los pequeños camarones la biometría se repitió a los 15 y a los 30 días. Las siguientes figuras muestran los resultados de los diferentes parámetros zootécnicos (Tabla 9) del periodo completo de los 30 días. Para verificar los resultados numericos de los parámetros zootécnicos, se presentan en el Anexo .

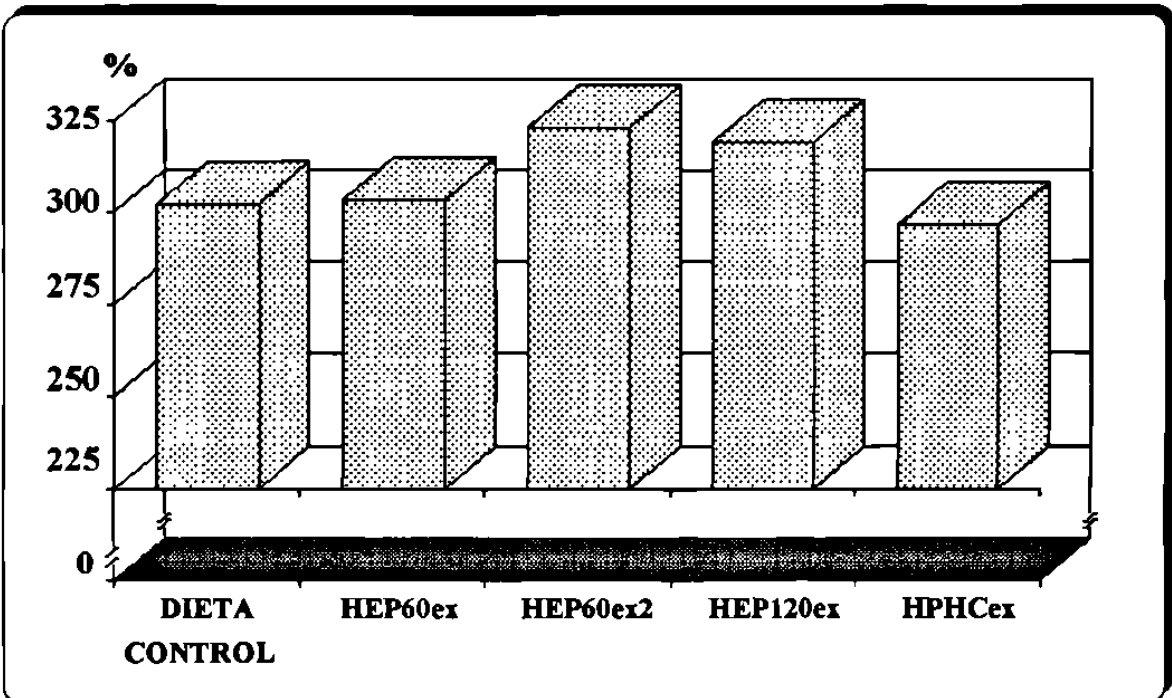
En la siguiente figura se muestra la comparación estadística de los pesos (g) promedios iniciales y finales de cada grupo experimental. La diferencias de los primeros no fueron significativas ($F=0.0704$; 19,270; $p=1.0000$). Esto permitió atribuir a las dietas las variaciones que se observan entre los parámetros zootécnicos y nutricionales resultantes. Con respecto a los pesos promedio finales, las diferencias no mostraron ser significativas ($F=0.0978$; 19,248; $p=0.7227$). Esto, de manera global, indica que la inclusión de harina de pluma hidrolizada enzimáticamente ó por cocción como sustituyernte parcial de la harina de pescado en dietas para *Penaeus vannamei* les permite un adecuado crecimiento.

FIGURA 5. COMPARACION DE LOS PESOS PROMEDIO INICIAL Y FINAL (g) DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



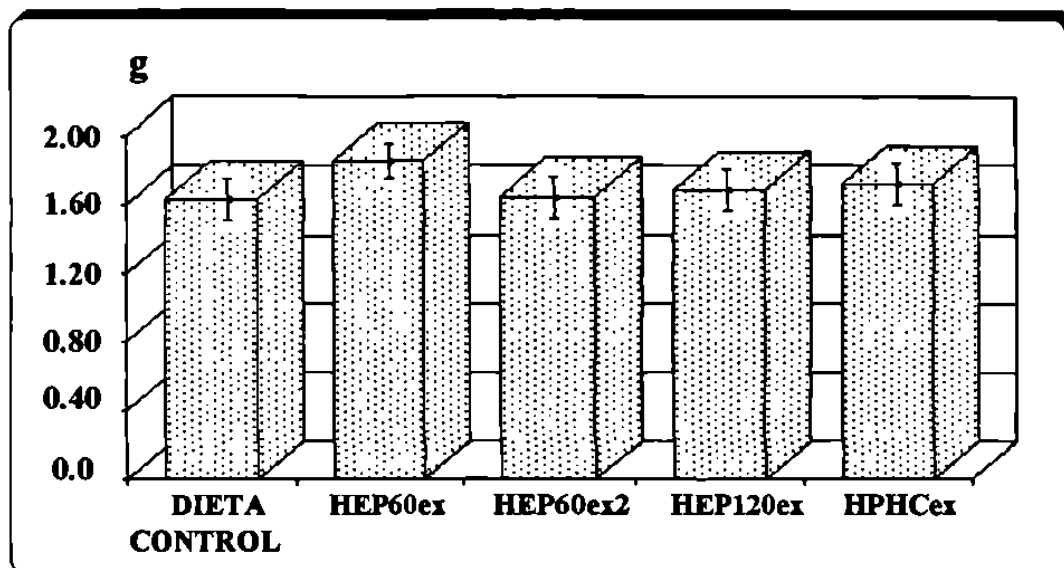
Para ilustrar más a detalle las diferencias, aunque no significativas ($p > 0.05$), de la tasa de crecimiento promedio de cada grupo experimental, en la figura siguiente se muestra el porcentaje de la ganancia en peso promedio de los organismos, alimentados con las diferentes dietas.

FIGURA 6. GANANCIA EN PESO PROMEDIO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES



En términos del aprovechamiento alimenticio reflejado en el crecimiento, la dieta control mostró el mejor resultado (1.6305 ± 0.1623), y con muy poca diferencia ($F=1.4595$; $4,15$; $p=0.2635$) las tasas de conversión (TCA) de las dietas HEP60ex2 (1.6470 ± 0.1831) y HEP120ex (1.6874 ± 0.1627).

FIGURA 7. EVALUACION DE LA TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES



Los resultados de la Razón de Eficiencia Proteica (PER) reflejan de manera inversa los resultados obtenidos en la TCA. La mejor dieta fue la HEP60ex2 (2.0684 ± 0.2289), seguida por la dieta control (1.9638 ± 0.2064), el hidrolizado de 120 minutos (HEP120ex, 1.9261 ± 0.1902), el hidrolizado por cocción (HPHCex, 1.8432 ± 0.1115) y el hidrolizado de 60 minutos (1.6646 ± 0.1598). Los valores no revelan diferencias significativas ($F=2.7053$; $4,15$; $p=0.0705$).

FIGURA 8. EVALUACION DE LA RAZON DE EFICIENCIA PROTEICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

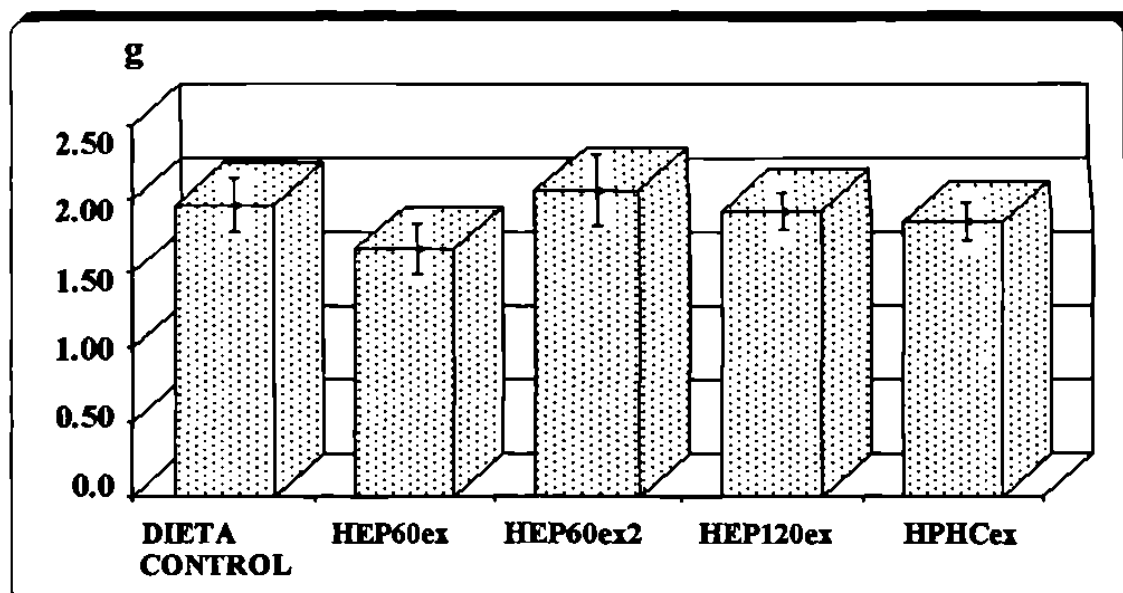
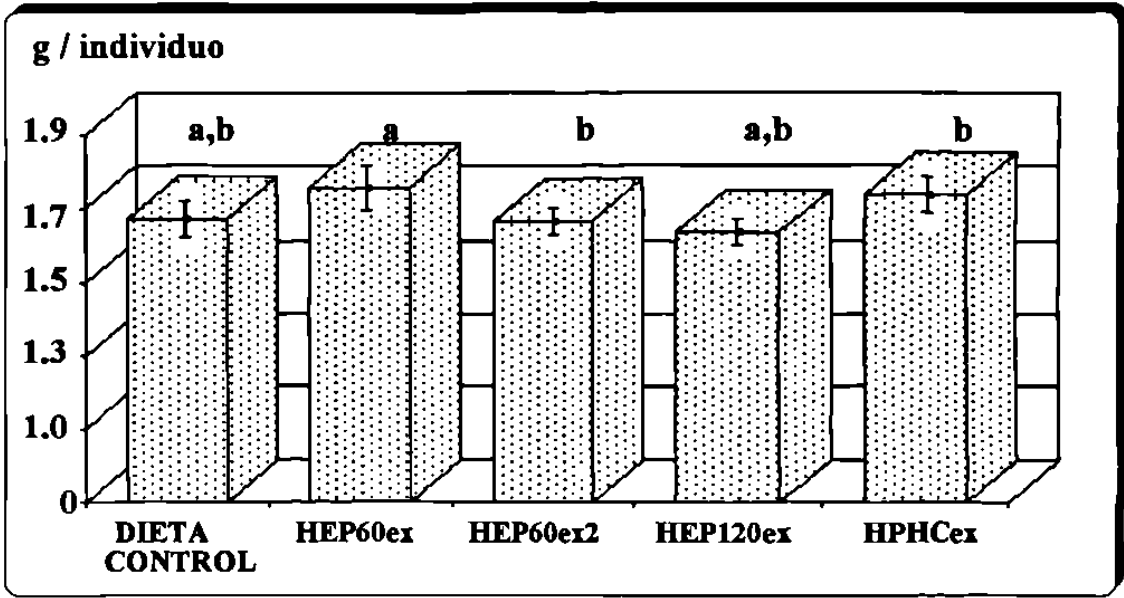


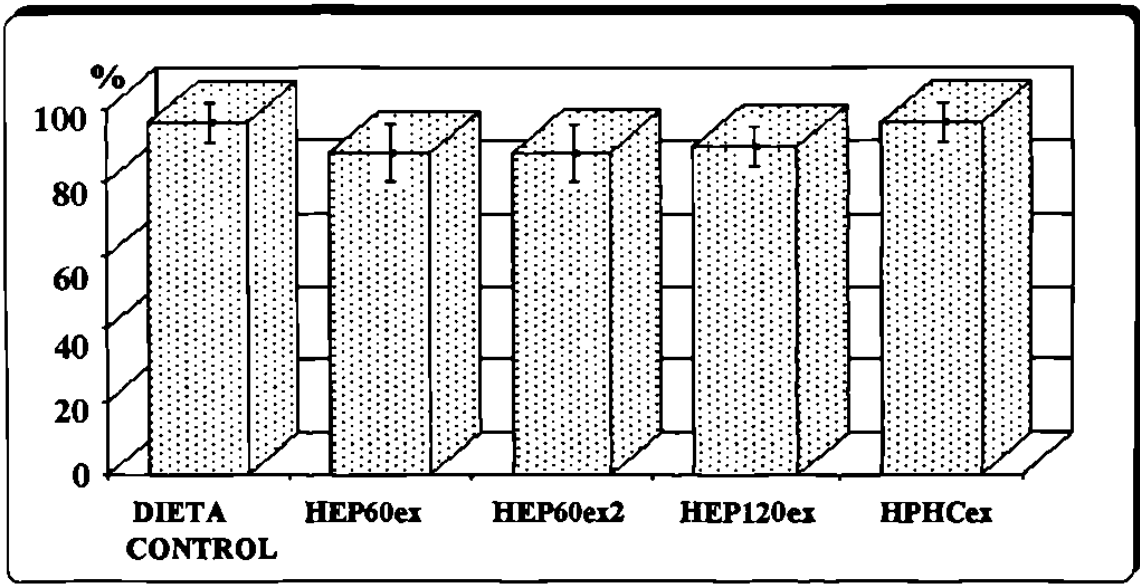
FIGURA 9. EVALUACION DEL CONSUMO DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES A LOS 30 DIAS



➤ Las literales iguales denotan grupos homogéneos ($p > 0.05$), de lo contrario si existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

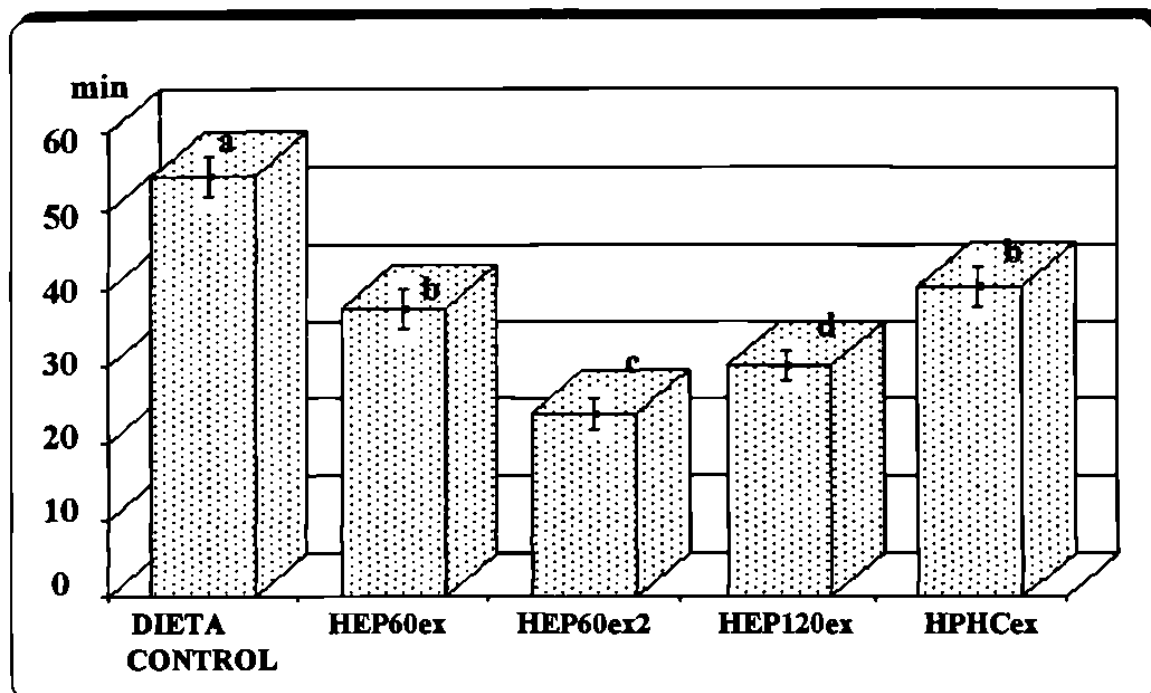
En la figura anterior se aprecia que la dieta hidrolizada por 60 minutos tuvo mejor aceptabilidad (HEP60ex, 1.8585 g), seguida de la hidrolizada por cocción (HPHCex, 1.8357 g) de manera significativa ($F=4.57987$; $4, 15$; $p=0.02356$). Por el contrario las dietas: hidrolizada por 120 minutos (HEP120ex, 1.7358 g), Hidrolizada por 60 minutos a doble inclusión (HEP60ex2, 1.7663 g) y la dieta control (1.7716 g), tuvieron una menor aceptación. De manera global se puede considerar que los hidrolizados tienen una buena palatabilidad para los camarones. La correlación con la tasa de crecimiento resulta con una $R=0.7249$ de 4 replicados y una $p=0.083$. Esto último indica una estrecha relación del consumo con el crecimiento.

FIGURA 10. EVALUACION DE LA SOBREVIVENCIA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES A LOS 30 DIAS



En la Figura 10 observamos una mejor sobrevivencia de los organismos alimentados con la harina de pluma hidrolizada por cocción (HPHCex, 96.5%) y con la dieta control (96.25 %). El resto de las dietas permitieron sobrevivencias entre 88 y 89.75 %, lo que para bioensayos de crecimiento en laboratorio es aceptable.

FIGURA 11. EVALUACION DEL TIEMPO DE TRANSITO DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.



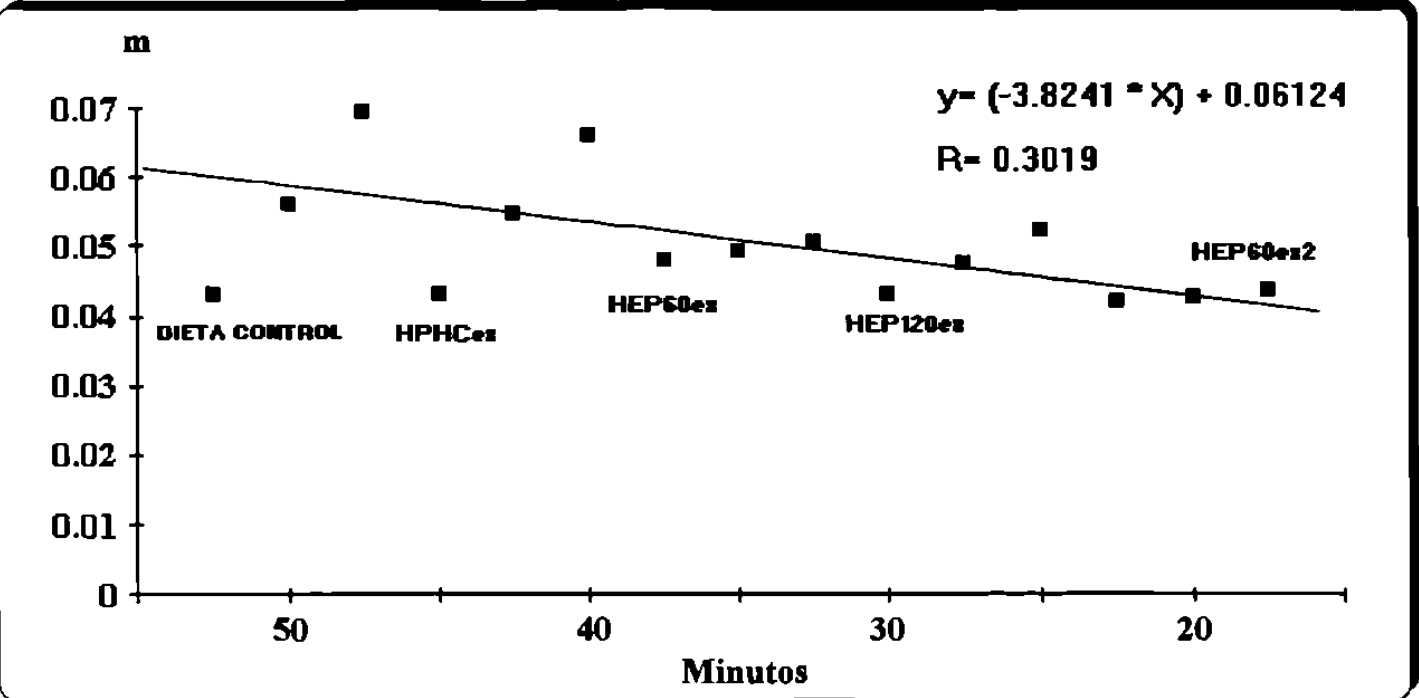
➤ Las literales iguales denotan grupos homogéneos ($p > 0.05$), de lo contrario si existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

En la Figura 11 observamos que la dieta HEP60ex2 consume el menor tiempo (24' 03" min) para recorrer el tracto intestinal del camarón, seguida por el hidrolizado de 120 minutos (29'33"min). También se observa que las dietas HEP60ex y HPHCex forman un grupo homogéneo con tiempos de 37' 40" y 40' 26" respectivamente. Las diferencias entre los tratamientos son significativas ($F=14.8184$, 4,10; $p=0.0138$). Esta aproximación aparenta guardar una relación inversa a la digestibilidad *in vivo* e *in vitro*.

La correlación Pearson del tiempo de tránsito contra digestibilidad *in vitro* resulta con una $R=0.3019$ de 5 replicados y con una $p=0.137$ (Fig. 12), lo cual indica que la metodología del tiempo de tránsito se debe depurar para lograr un buen grado de predicción.

Por otro lado resultó una $R=0.7976$ con 4 replicados y una $p=0.106$ la correlación Pearson del tiempo de tránsito contra la tasa de crecimiento.

FIGURA 12. PENDIENTES DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* (TRIPSINA DE PANCREAS PORCINO) CONTRA TIEMPO DE TRANSITO INTESTINAL (min)



PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DURANTE EL BIOENSAYO DE CRECIMIENTO

En cuanto a las condiciones de los parámetros fisico-químicos que prevalecieron en los acuarios ó unidades experimentales durante los 30 días del bioensayo de crecimiento, se puede notar en la siguiente Tabla que todos los rangos presentan condiciones favorables para el buen desarrollo de los organismos en estudio.

TABLA 16. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DURANTE EL BIOENSAYO DE CRECIMIENTO

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS	RANGOS
♦ TEMPERATURA (°C)	26 - 30
♦ SALINIDAD (‰)	33 - 35
♦ pH	8.0 - 8.2
♦ NITRITOS (mg / ml)	0.1 - 0.2
♦ NITRATOS (mg / ml)	10 - 20

3.5) EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LOS INGREDIENTES MEDIANTE LA TECNICA DE pH-SHIFT

Conforme al protocolo descrito en la Sección 7.7 se aplicó esta técnica con la finalidad de probar su rapidéz, confiabilidad y costo. En la siguiente Tabla se muestran las pendientes y porcentajes de digestibilidad obtenidos al aplicar la Tripsina de pancreas porcino (Tipo IX). Se observa que, con respecto a la albúmina (proteína de referencia), las pendientes más abruptas son de las dietas con hidrolizado enzimático de 60 minutos con doble inclusión (78.56%) y el hidrolizado enzimático de 120 minutos (76.23%). La correlación Pearson con la ganancia en peso revela una $R=0.8371$ con 4 replicados y una $p=0.077$, lo cual indica que con un 93% de confiabilidad la digestibilidad *in vitro* es un estimador del crecimiento de los camarones.

TABLA 17. PENDIENTES OBTENIDAS CON EL METODO pH-SHIFT Y PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* APLICANDO LA TRIPSINA DE PANCREAS PORCINO (TIPO IX)

DIETA	PENDIENTE	% DE DIGESTIBILIDAD
ALBUMINA (INGREDIENTE)	-0.07147188	100
HEP60ex2	-0.05614483	78.56
HEP120ex	-0.05448012	76.23
DIETA CONTROL	-0.04912192	68.73
HPHCex	-0.04758356	66.58
HEP60ex	-0.04278935	59.87
HARINA DE PESCADO NORUEGA 1	-0.04102412	57.4
HARINA DE PESCADO NORUEGA 2	-0.02631738	36.82

Con la Tripsina de páncreas bovino (Tipo XI) se observa que la dieta que presentó la mayor digestibilidad (referencia del el 100%) fue con la dieta control (100%), seguida por la proteína de referencia (albumina de bovino, 79.559%), el hidrolizado enzimático de 120 minutos y el hidrolizado enzimático de 60 minutos con doble nivel de inclusión (73.24%). Estos resultados son inconsistentes con los obtenidos con la tripsina de páncreas porcino (Tipo IX). Por tanto sólo se muestra la siguiente Tabla.

TABLA 18. PENDIENTES OBTENIDAS CON EL METODO pH-SHIFT Y PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* APLICANDO LA TRIPSINA DE PANCREAS BOVINO (TIPO XI)

DIETA	PENDIENTE	% DE DIGESTIBILIDAD
DIETA CONTROL	-0.04133588	100
ALBUMINA	-0.03289696	79.59
HEP120ex	-0.03101305	75.03
HEP60ex2	-0.03027509	73.24
HEP60ex	-0.03016919	72.99
HPHCex	-0.02832207	68.52
HARINA DE PESCADO NORUEGA 1	-0.02042565	49.41
HARINA DE PESCADO NORUEGA 2	-0.01268325	30.68

La digestibilidad obtenida con la "*Hepatopancreatina*" se presenta muy discordante con respecto a los parámetros de comparación, por lo que sólo se muestra la siguiente Tabla.

TABLA 19. PENDIENTES OBTENIDAS CON EL METODO pH-SHIFT Y PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* APLICANDO LA "HEPATOPANCREATINA" DE HEPATOPANCREAS DE CAMARON

DIETAS	PENDIENTES	% DE DIGESTIBILIDAD
HARINA DE PESCADO NORUEGA 1	-0.01669621	100
HARINA DE PESCADO NORUEGA 2	-0.01271028	76.13
ALBUMINA	-0.00079088	4.74

8.6) CORRELACION DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* VS. DIGESTIBILIDAD *IN VIVO*

Con esta correlación se buscó determinar la predicción de la técnica modificada de digestibilidad, *pH-Shift*, lo cual está en función de la simulación de la acción fisiológica de la principal proteasa hepatopancreática de *Penaeus vannamei*. Para ello se tomaron los valores de digestibilidad *in vivo* (determinados por por la M. en C. Martha G. Nieto, 1995) de dos dietas a base de diferentes harinas de pescado (Noruega 1 y Noruega 2). En la siguiente Tabla se muestran los coeficientes de correlación (R) y sus correspondientes probabilidades.

Cabe mencionar que se muestra unicamente el resultado obtenido con la Tripsina de pancreas porcino, ya que con las otras proteasas resultaron coeficientes de correlación muy bajos.

TABLA 20. CORRELACION DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* VS. LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* CON TRIPSINA DE PANCREAS PORCINO

DIETAS	NORUEGA 2	NORUEGA 1
NORUEGA 2	R=0.9677 P=0.0810	
NORUEGA 1		R=0.9465 P=0.0750

La siguiente Tabla muestra los valores de digestibilidad *in vivo* (Nieto, 1995) utilizados en la correlación anterior.

TABLA 21. PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VIVO*

DIETA	% DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA
CON HARINA DE PESCADO NORUEGA 1	82.3 ± 5.85
CON HARINA DE PESCADO NORUEGA 2	63.52 ± 3.1

- Estos datos se tomaron de la tesis de Nieto, 1995.
- El número superior es el promedio de tres replicados y el número inferior es la desviación estándar.

8.7) ANALISIS FINANCIERO DEL COSTO DE LAS DIETAS

Para abastecer la demanda de alimentos acuícolas a nivel nacional en 1992 se fabricaron 29,500 toneladas (Zendejas, 1993), por lo que se podrían utilizar aproximadamente 5,310 toneladas de harina de pluma en base húmeda (45% de humedad). Esta aproximación es para tener una idea del volumen anual demandado por la industria de los alimentos acuícolas, siendo evidente que todavía resta aclarar la efectividad, de los multicitados ingredientes experimentales, en campo.

En la sección 2.11 se hace una comparación del costo por punto de proteína digestible (CPPD) de dos ingredientes: la harina de pescado y de la harina de pluma hidrolizada por cocción; donde se observa que la diferencia en porcentaje entre ambos CPPD's es de 8.51%, infiriendo que lo anterior esta en función de sus respectivos costos y coeficientes de digestibilidad. Por tanto y debido a la mejora de la digestibilidad lograda en los ingredientes experimentales, en la siguiente Tabla se muestra un ejercicio similar, donde se utiliza para la comparación el hidrolizado enzimático de pluma de 120 minutos.

TABLA 22. COMPARACION DE COSTOS DE LA PROTEINA DIGESTIBLE DE LA HARINA DE PESCADO Y DEL HIDROLIZADO ENZIMATICO, HEP120ex.

HARINAS	PROTEINA CRUDA % (Base seca)	COSTO \$ M.N./ton	DIGESTIBILIDAD ¹ %	CPPD \$/kg
HARINA DE PESCADO	72.48	3,300	90	5.05
HEP120ex	59.99	1,079	76.23	2.36

➤ \$, moneda nacional; CPPD, costo por punto de proteína digestible.

1, El porcentaje de digestibilidad de la H. de pescado se tomaró de Tacon, G.J.A., (1989). El de el HEP120ex se determinó en el presente estudio.

Los cálculos de los CPPD's se realizaron de la misma manera como se demuestra en la Sección 2.11 (Tabla 6). Cabe señalar que la diferencia entre los costos por tonelada y los CPPD's son de 67.30 y 53.27%, respectivamente. Si ponemos nuestra atención en esta última diferencia (53.27%), la cual para el ejercicio de la Tabla 6, era del 8.51%, con la mejoría en la digestibilidad se eleva en un 84.02 %, lo cual es muy atractivo.

Es evidente que al mejorar la digestibilidad, el CPPD correspondiente disminuye, es decir, los alimentos que contengan ingredientes con mejor digestibilidad y que sostengan un buen crecimiento, como el caso de los hidrolizados enzimáticos de pluma, ofrece al acuacultor mejores rendimientos a menor costo.

A manera de un ejemplo ficticio, el ahorro que significaría para un acuacultor que por ciclo de cultivo utilice 60 toneladas de alimento para camarón, lo cual representa una inversión de \$237,000 M.N., (tomando alimento de 30% de proteína, a \$3950/ton puesto en granja); si a este mismo alimento se le sustituyera un 45% del porcentaje de proteína con hidrolizado de pluma, el costo se reduciría aproximadamente un 10%, en M.N. lo que representaría una inversión de \$23,700 M.N. sin mermas en el crecimiento.

9) DISCUSIONES

9.1) ASPECTOS TECNOLOGICOS (TRANSFORMACION)

9.1.1) CARACTERISTICAS DE LA PLUMA

El plumaje que protege los cuerpos de las aves está constituido principalmente por una escleroproteína, denominada queratina. Este tipo de proteínas son insolubles a temperatura ambiente ya sea en presencia de bases ó ácidos débiles, lo que explica su resistencia a la hidrólisis de proteasas. Las características de resistencia de la queratina están relacionadas con su abundancia en cistina lo cual le confiere la formación de puentes inter e intra-peptídicos de tipo covalente-disulfuro así como de una estructura terciaria de hélices imbricadas que unidas unas a otras forman verdaderos filamentos (Menassa, 1982).

Las características mencionadas deben ser tomadas en cuenta en el momento de su transformación, para asegurar, por un lado, una molienda efectiva y por otro, un ataque enzimático eficaz sobre los múltiples enlaces disulfuro (Shorland, 1975). Una de las condiciones imperativas para lograr una buena molienda es que la pluma este lo más fresca y húmeda posible. Esto no necesariamente implica un paso adicional de preacondicionamiento ya que los pollos de rastro inmediatamente después de ser sacrificados son sometidos a un baño de 64 a 67°C durante un minuto, para facilitar la operación de desplumado. Así es como se obtiene el subproducto de pluma, cumpliendo a la vez, con las condiciones ideales para que se facilite su molienda y se obtenga un óptimo rendimiento ya que el que se logró con el molino de carne fue de aproximadamente ocho 8 kg de pluma húmeda por cada hora, lo que dista de ser bueno a nivel industrial. Por lo que es recomendable establecer las pruebas de molienda utilizando otros equipos.

9.1.2) RIESGO DE DESCOMPOSICION

Por otra parte cabe hacer notar que en éstos climas semiáridos (con temperaturas de primavera-verano de 31 a 42°C) la descomposición de las plumas comienza dentro de las primeras 5 cinco horas (esto se denota por que despiden un olor amoniacado), esto se logró evitar gracias al método de transformación que se practicó, puesto que el molido de la pluma cruda se llevó a cabo de inmediato y de manera continua hasta finalizar la co-extrusión. El tiempo estimado desde que la pluma es separada de la piel del pollo hasta que se a co-extruido no es mayor de cuatro 4 horas. Considerando las razones anteriores, la forma más adecuada y económica en la que los subproductos avícolas pueden ser conservados, preservando su valor nutricional, es que, en las plantas y/o rastros en donde se producen de manera secundaria, estos sean procesados de forma paralela al producto principal, es decir, que se contemple una línea de procesado exclusiva para la transformación inmediata de los subproductos.

9.1.3) INTRODUCCION DE LA PREMEZCLA ENZIMATICA

Para lograr que la cantidad adecuada del premezcla enzimática estuviera en contacto con la mayor parte del volumen de la pluma molida se procedió a agregar el doble del porcentaje recomendado por el fabricante (Insta-Pro), que era de 2.5 %, incluyendo una concentración final del cinco 5 % del peso de la pluma húmeda ya que se encontró que con la cantidad recomendada, en el tiempo de hidrólisis estipulado, no era suficiente (*c.f.* Fig. 4). Este incremento en la incorporación significó un aumento efectivo del 0.72 % en el costo de las dietas que utilizaron los ingredientes hidrolizados enzimáticamente.

Como se menciona en los resultados, no se señalaron recomendaciones específicas por parte de los fabricantes de la premezcla enzimática (Insta-Pro) para controlar el pH ni la temperatura de reacción, por lo que la temperatura se mantuvo constante mientras que el pH fluctuó en función del proceso proteolítico. Podemos considerar que dentro del rango de estos parámetros adoptados se procedió en condiciones adecuadas debido a que se observaron cambios indicativos de la hidrólisis enzimática, tales como una mayor densidad de la mezcla, cambios en la textura de la pluma (pegajosa) y un súbito olor amoniacal (debido presumiblemente a la desaminación de aminoácidos y péptidos durante la hidrólisis).

9.1.4) CONFIRMACION DE LA HIDROLISIS

En la Figura 4 se puede apreciar la tendencia de las concentraciones, de la proteína soluble, obtenida al hidrolizar los ingredientes experimentales (HEP30ex, HEP60ex y HEP120ex), la cual aumenta de forma significativa ($p < 0.05$) conforme se incrementa el tiempo de hidrólisis enzimática de 30 a 60 minutos. En éste sentido se puede notar una diferencia conspicua del ingrediente HEP30ex con respecto al resto de los tratamientos, lo que nos permite inferir que en este caso el tiempo de hidrólisis resultó insuficiente, ya que la concentración obtenida fue apenas comparable con la de pluma molida y está por debajo de la obtenida con la pasta de soya sin extraer. Cabe hacer mención del valor de la concentración de la proteína soluble obtenido al mezclar la pluma molida con pasta de soya sin co-extraer (HP+PS, 4.3802 mg/ml) en una proporción de 1:1 y cuyo valor esperado sería el promedio de 3.66 mg/ml, sin embargo el resultado obtenido fue superior, lo cual pudo deberse a la predominancia de los solubles de la pasta de soya.

Hubiera resultado interesante incluir el tratamiento de HEP30ex con la finalidad de corroborar su valor nutricional durante el bioensayo de crecimiento, sin embargo el dispositivo experimental que montamos, así como el número de camarones no nos permitieron llevarlo a cabo.

9.1.5) TAMAÑO DE LOS PEPTIDOS

En ésta serie de resultados igualmente se observa que el mayor grado de hidrólisis (harina de pluma hidrolizada por cocción co-extraída con pasta de soya, HPHCex, mg / ml = 5.4780) se logra al transformar la pluma mediante la cocción y co-extrausión, lo cual viene a confirmar la importancia del tamaño de los péptidos para obtener una buena tasa de crecimiento. En efecto, se

ha reportado que tanto los aminoácidos libres como los péptidos muy pequeños no son absorbidos a la misma velocidad, lo cual no los hace disponibles al mismo tiempo para la síntesis de proteína destinadas a la acreción de los tejidos. El hecho de introducir péptidos de un tamaño adecuado tiene la doble ventaja de poder disponer de aminoácidos esenciales al mismo tiempo para la síntesis de proteínas y de un ahorro de energía para la digestión. Este grado de hidrólisis ó de proteína soluble está dentro del rango de 5 a 10 % de los hidrolizados disponibles comercialmente (Sánchez, 1995). Los resultados mencionados pudieran significar que debido a el efecto de las grandes presiones (60 psi) combinadas con el calor (120°C / 60 minutos) producirían una excesiva fragmentación de la estructura de la queratina, cuyos productos son aminoácidos y péptidos formados por cadenas de 3 a 10 aminoácidos (Sánchez, 1995). Para poder esclarecer la excesiva fragmentación de forma cuantitativa y cualitativa, así como el grado de variabilidad se debería aplicar una tecnología de análisis como cromatografía de exclusión ó electroforesis, lo cual, hizo falta en el presente estudio. En contraste con lo anterior, el efecto del rompimiento de los enlaces peptídicos de los puentes disulfuro inter e intrapeptídicos de la queratina mediante el ataque ampliamente selectivo de las proteasas (Alder-Nissen, *et.al.* 1983), puede resultar en grupos de péptidos más uniformes con similitudes importantes en su patrón estructural lo cual reduce significativamente ($p < 0.05$) la concentración de proteína soluble ó grado de hidrólisis. Lo anterior se puede ver reflejado en el valor de eficiencia protéica (PER) de los hidrolizados enzimáticos (*c.f.* Fig. 8).

Una serie de estudios han demostrado que el material parcialmente hidrolizado es superior nutricionalmente aquel que está completamente hidrolizado. Nos dicen también que niveles altos de aminoácidos libres en el material completamente hidrolizado van a intervenir en la tasa de absorción de aminoácidos en el tracto gastrointestinal de los peces, resultando en una absorción prematura de ciertos aminoácidos esenciales que están presentes en forma libre relativos a la absorción de otros aminoácidos presentes como polipéptidos ó como proteínas intactas (Hardy, 1991).

9.1.6) INCLUSION DE LA PASTA DE SOYA

El hecho de agregar pasta de soya a la mezcla de pluma molida+premezcla enzimática ayudó de forma efectiva a lograr dos objetivos:

1) Detener la reacción de hidrólisis enzimática casi totalmente, aunque los fabricantes del Premix advierten que sólo un tratamiento térmico como la extrusión logra detenerla al 100 %. De aquí que los diferentes tiempos de hidrolizado hayan sido concebidos de tal manera que se frenara parcialmente la hidrólisis con el agente seco (pasta de soya) e inmediatamente se procediera a la co-extrusión. Esto es importante ya que en el presente estudio se ha determinado que existe un lapso de tiempo situado entre 60 y 120 minutos para lograr un adecuado grado de hidrólisis, ó bien, un tamaño adecuado de los péptidos. Las posibles causas que hacen que se detenga casi por completo la hidrólisis enzimática al mezclar la pluma+premezcla enzimática con la pasta de soya, son: la sobresaturación de la enzima por un exceso del sustrato y/o debido a que el agente seco (humedad, 7 %) absorbe el agua del medio de reacción hasta imposibilitarla (Gill, 1989).

2) Mejorar la calidad de la proteína de los ingredientes experimentales mediante el enriquecimiento del perfil de aminoácidos, ya que la queratina es baja en lisina, pero alta en aminoácidos azufrados (cistina, cisteína y metionina), mientras que la pasta de soya es pobre en aminoácidos azufrados pero rica en lisina. Así, ambas proteínas son complementarias (Gill, 1989). Cabe recordar que la mezcla utilizada fue de 1:1, sin embargo si se decidiera utilizar un ingrediente de estas características en niveles de inclusión de 40 % el contenido de pasta de soya (20 %) podría ser un factor antipalatable para el camarón, por lo que se sugiere probar mezclas de 2:1 pluma-pasta de soya, probar mezclas de pluma con harina de trigo u otro cereal, lo que permitiría aumentar el nivel de inclusión., o bien adicionar atractantes alimenticios.

9.1.7) PAPEL DE LA CO-EXTRUSION

La aplicación de la co-extrusión se logró sin dificultad siguiendo las recomendaciones de los fabricantes (Insta-Pro) para su adecuada operación. Es importante mencionar que con ésta tecnología efectivamente es posible convertir los subproductos en ingredientes con un mayor valor agregado y un mejorado valor nutricional. Los objetivos logrados con esta tecnología, son (además de los mencionados):

- 1) Mezclar ambos ingredientes y así obtener uno solo con un perfil de aminoácidos mejorado y con una digestibilidad más alta (77.95 a 90.78 %).
- 2) Reducir la humedad final del los ingredientes experimentales de un 8 a 10 %, lo que contribuye al almacenamiento de éstos por un largo periodo y en condiciones ambientales.
- 3) Aunque no se realizaron cultivos para comprobar el grado de esterilización de los ingredientes experimentales se observó que los camarones no desarrollaron síntomas patogénicos (nado errático, aparición de manchas, etc), durante el bioensayo de crecimiento.

9.2) COMPOSICION NUTRICIONAL DE LOS INGREDIENTES

En la tabla 14 se observan los análisis químicos de los hidrolizados enzimáticos así como del ingrediente a base de harina de pluma hidrolizada por cocción. Se puede apreciar que en el caso de los hidrolizados enzimáticos, estos tienen un nivel aceptable de proteína (59.99 a 61.46%), lo cual resulta definitivamente ventajoso, ya que por su buena calidad nutricional y bajo precio podrían llegar a competir en el porcentaje de inclusión con ingredientes convencionales tales como la harina de pescado ó harinas vegetales. Cabe hacer notar otro aspecto que es el bajo contenido en lípidos (1.42 a 1.64 %) lo cual va en pro de la formulación debido a que los ácidos grasos que posee dicha fracción no son ni de la familia de los oleicos ni de los linolénicos (ácidos grasos insaturados, C20 y C22), esenciales para los requerimientos del camarón, permitiendo espacio en el alimento para incluir otras fuentes que si abastecen sus requerimientos. De acuerdo a esto, Lawrence *et.al.* (1991) comprobó que al incluir 7 % de aceites saturados de pollo en dietas para *Penaeus vannamei* se reduce el crecimiento, pero al agrega solo un 3 % de estos lípidos no se presentan mermas. De aquí que resulte imprescindible la inclusión de aceite de organismo marinos (pescado, calamar, etc.). Respecto al resto de los parámetros se puede mencionar que el porcentaje de fibra es mediano (2.5 %) en comparación del contenido de fibra de harinas de

subproductos animales como: harina de carne y hueso (2.4%), harina de subproductos avícolas (2.1%), etc; relativamente alto en comparación de la harina de pescado (0.6%), harina de trigo (1.3%), etc; y relativamente bajo en comparación de la harina de residuos de camarón (12.8%), soya extruida (5.2%), pasta de soya (7.3%), etc. (NRC, 1993). En cuanto al contenido de ceniza este es adecuado para asegurar el aporte de minerales como el sodio, potasio y algunos minerales traza esenciales, y por último el nivel de carbohidratos es sensiblemente elevado (12.92 a 16.73 %).

El ingrediente a base de harina de pluma hidrolizada por cocción posee un buen porcentaje de proteína (49.05 %) pero un alto nivel de lípidos lo que va en detrimento de su calidad nutricional ya que como lo menciona Lawrence *et.al.* (1991) podría ser la causa del bajo crecimiento en comparación de la dieta control (1.94 %) así como de los HEPex (Aprox. 6.02 %); su contenido en ceniza es bajo (4.52 %) y relativamente alto en carbohidratos (27.67 %).

9.3) EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LOS INGREDIENTES

Los parámetros físico-químicos del agua de mar sintética que se mantuvieron durante los 30 días del bioensayo de crecimiento se encuentran dentro de los rangos adecuados promoviendo así una buena sobrevivencia y desarrollo de la especie *Penaeus vannamei*, por lo que el crecimiento en buena medida fue determinado principalmente por los efectos de las dietas.

9.3.1) MODIFICACION DEL METODO pH-SHIFT

De el método que originalmente propusieron Satterlee *et al.* (1977) para una rápida estimación de la calidad proteica, se tomaron en cuenta las concentraciones de enzima que estos autores sugirieron (1.55 mg de enzima / ml de solución), así como de sustrato proteico (6.25 mg de proteína / ml de solución), el tiempo de lectura (10 minutos) y el pH de 8.0 ajustado en ambas soluciones. Sin embargo al ensayar en repetidas ocasiones bajo las condiciones descritas, notamos que después de una abrupta caída del pH en el primer minuto, la pendiente de la curva se volvía cada vez más asintota al eje de las abscisas después de los 6 - 7 minutos (el ejemplo de la gráfica se puede observar en el Anexo 10a) lo que nos indicaba una posible actividad insuficiente de la enzima o bien su probable saturación. Así que para obtener una curva en la cual no se manifestara una tendencia hacia la asintotía, elevamos al doble la concentración enzimática, reduciendo aproximadamente un mg la concentración del sustrato proteico, el tiempo de lectura y el pH inicial se mantuvieron igualmente. Esta reacción se lleva a cabo a 37°C y el resultado de las modificaciones fue el esperado (el ejemplo de la gráfica se puede observar en el Anexo 10b).

La unidad en que se expresan los resultados de ésta técnica es en porcentaje de digestibilidad, para ello se utilizó una proteína estándar (albúmina de bovino) como referencia del 100% y a esta referir los valores de los ingredientes experimentales.

Esta rápida y sencilla técnica pretende ser un confiable estimador del aprovechamiento digestivo de los alimentos acuáticos, así también por las ventajas de su aplicación, tales como: 1) no es necesario cantidades elevadas de sustratos protéicos ni condiciones de pH y temperatura que cualquier laboratorista pueda lograr, 2) a reserva de que se realicen más ensayos, no exige la

presencia de otras enzimas para simular la acción de la tripsina del hepatopáncreas del camarón y poder obtener una buena correlación con la digestibilidad verdadera, 3) su bajo costo ya que se requieren muy poca cantidad de los reactivos (Sección 7.7). Para tener una idea de esto último a continuación se presentan los precios actualizados de la compañía *Sigma*, como son: albúmina de bovino (\$36.10 dls./10 g) y la tripsina de páncreas porcino (\$33.70 dls./1 g).

La principal desventaja, como toda técnica de laboratorio, es que en las mediciones gravimétricas, volumétricas, tiempos de lectura, etc. no se realicen con el debido cuidado y exactitud.

9.3.2) DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* E *IN VIVO*

Habiéndose probado tres tipos de enzimas, un complejo homólogo, la "*Hepatopancreatina*" y dos heterólogas la Tripsina de páncreas bovino Tipo XI así como la Tripsina de páncreas porcino Tipo IX, ésta última demostró una clara distinción de las diferencias que pudieran haber sido atribuidas a los ingredientes proteicos por efecto de los diferentes métodos de transformación. La posible explicación de esto es la gran homología (50%) entre la Tripsina porcina y la de los peneidos (Galgani *et.al.*, 1985).

9.4) EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIETAS

9.4.1) DIGESTIBILIDAD *IN VIVO* E *IN VITRO*

Los mejores valores de digestibilidad *in vitro* se obtuvieron con la dieta HEP60ex2 (78.56 %) lo que se sustenta con la mejor tasa de crecimiento (323.24 %), Razón de Eficiencia Proteica (PER = 2.0684) y de manera secundaria con la Tasa de Conversión Alimenticia (TCA = 1.6470). La congruencia de los datos mencionados son una evidencia más de que los métodos *in vitro*, logran en buena medida simular algunas de las particularidades digestivas de los crustáceos (Mendoza, 1993), permitiendo así llevar a cabo en poco tiempo y de manera eficaz la selección de numerosos lotes de materias primas, el monitoreo de diferentes procesos de transformación de los alimentos (Moughan *et al.* 1989, citado por Mendoza, 1993), y la determinación de la adaptación digestiva de las especies a las diferentes materias nuevas (Grabner, 1985, citado por Mendoza, 1983). En éste mismo sentido cabe señalar que a pesar de que la correlación obtenida sobre las dietas con diferente digestibilidad en mink, Noruega 1 y Noruega 2 a las que Nieto, (1995) les determino su digestibilidad proteica *in vivo*, no fue significancia ($p > 0.05$), siendo las probabilidades de 0.081 y 0.095 respectivamente. Como se puede observar ambas probabilidades están muy cerca del valor de significancia ($p > 0.05$). Esto se pudo deber probablemente al efecto de la medición por diferentes personas y también pudo existir cierto sesgo por haber utilizado muestras de dietas almacenadas sin congelar por más de un año.

Es pertinente hacer notar que la correlación entre las digestibilidades *in vitro* e *in vivo*, se efectuaron para validar a las primeras. Se podría pensar que debido a que las harinas seleccionadas son casos extremos de digestibilidad en mink la correlación estuviera forzada. Sin embargo la consideración de esta harina se hizo con la premisa de que la técnica *in vitro* podría discernir entre las harinas diferenciadas por su digestibilidad en mink. Es en efecto necesario validar esta técnica con una gama mucho más amplia de harinas con niveles graduales de digestibilidad en mink.

En cuanto el consumo de las dietas se puede apreciar (*c.f.* Fig. 9) que aquella hidrolizada por 60 minutos y la dieta formulada con pluma hidrolizada por cocción son las que tienen la mayor aceptabilidad. Esto se debe presumiblemente al tamaño de los péptidos los cuales son hidrolizados y lixiviados rápidamente resultando como atractantes para los camarones. Por otra parte cabe mencionar que existe un proceso de descomposición dentro de la misma pluma que no se puede evitar en el cual se generan aminas biogénicas que a su vez son detectadas por los órganos quimiorreceptores de estos organismos (*c.f.* Mendoza, R. y J. Montemayor, 1996.).

9.4.2) GANANCIA EN PESO, TCA Y PER

En lo concerniente a la ganancia en peso, la cual es uno de los parámetros más importantes para la evaluación biológica de la eficiencia nutricional de un ingrediente proteico experimental, el grupo de camarones que mostró el mejor promedio correspondió al que se le suministró la dieta HEP60ex2 (323.24 %), esto se apoya en los valores mencionados de TCA, PER, la digestibilidad *in vitro* con Tripsina de páncreas porcino y de manera secundaria en el tiempo de tránsito (TT = 23'63" minutos). Lo anterior pudo ser debido a que el producto de una hidrólisis selectiva, como lo es la de tipo enzimática, resultan péptidos con similitudes importantes en su patrón estructural, esto aunado al efecto de desembobinado de las estructuras terciarias y cuaternarias, sin afectar la primaria, que ejerce la co-extrusión sobre las moléculas, lo que se puede considerar como una predigestión (Sánchez, 1995). Con éste tipo de transformación sería susceptible de lograr estructuras peptídicas que fueran mejor asimiladas a nivel digestivo. Este aprovechamiento digestivo también se ve reflejado, aunque en menor grado, en los grupos de camarones a los que se les suministraron dietas con hidrolizados enzimáticos, tales como: HEP120ex y el HEP60ex (*c.f.* Figuras 5, 6, 7, 8, 9 y 10). En cambio los ingredientes experimentales que provienen de una transformación que utiliza altas presiones combinadas con calor su estructura se ve afectada a tal grado que es posible que la queratina sea hidrolizada en forma desordenada o no selectiva y excesiva, como ya se menciona, es decir, los péptidos y aminoácidos libres resultantes no solo variarían en tamaño sino que son tan pequeños que su aprovechamiento a nivel digestivo no resulta ser muy eficiente, debido tal vez a la desigual disponibilidad de los aminoácidos en el momento de la absorción intestinal para la síntesis de proteínas. Lo anterior pudo ser la causa por la cual los grupos de camarones (Dieta Control y HPHCex) a los que se les suministraron dietas con ingredientes con éstas características presentaron valores de la evaluación biológica menos importantes (*c.f.* Figuras 7, 8, 9 y 10).

Es pertinente mencionar que en otro bioensayo realizado en la Sala de Bioensayos del Programa de Maricultura, FCB, UANL, se determinó la digestibilidad *in vivo* de la harina de pescado utilizada lo cual resultó ser mucho menor de la obtenida en otros lotes de la misma compañía. Por lo tanto, hay que considerar el hecho de que se utilizó una dieta control, formulada típicamente como las dietas comerciales, conteniendo harina de pescado no muy buena, sin embargo puede considerarse representativo de la calidad de la mayor parte de harinas de pescado disponibles en México.

En términos de los parámetros nutricionales de tasa de conversión alimenticia (TCA) y razón de eficiencia proteica (PER) el mejor resultado se obtuvo con la dieta control (1.6305 y 1.9638, respectivamente), sin embargo, cabe mencionar que las diferencias son pequeñas ($p > 0.05$) y pueden no ser importantes si tomamos en cuenta los costos de las dietas, por ejemplo si consideramos la TCA y PER de la dieta HEP60ex2 (1.647 y 2.0684, respectivamente) difieren en un 1.01 % y 5.05 % respectivamente en comparación con los de la dieta control, cuya diferencia en costos es de un 6.41 %.

9.5) ANALISIS FINANCIERO

Al hacer una comparación de costos de las dietas elaboradas en el laboratorio se observa una diferencia del 9.68% entre el de la dieta control (\$6.20M.N.) y el promedio del las dietas con hidrolizados (\$5.60M.N.). De lo anterior podemos decir que, en la medida del costo que implique la canalización de la pluma como ingrediente y el mejor rendimiento de su procesamiento hasta ser integrado en los alimentos acuícolas, el porcentaje señalado será cada vez más importante. Por tanto, la sustitución del 45 al 50 % de la harina de pescado con harina de pluma representa una disminución del 9 al 12% del costo del alimento. Esto último esta sujetó a los precios que se manejan en el presente trabajo y al valor que alcance la harina de pluma como ingrediente de calidad aceptable para alimentación animal. Este es un buen punto de reflexión para pensar en alianzas industriales estratégicas donde se diera, por un lado, la canalización no agravada (\$) de los subproductos que evite la contaminación, gastos por el traslado de los subproductos a los centros de acopio ó depósitos sanitarios, y por el otro, que estos gastos corrieran por cuenta del industrializador de materias primas, interesado.

La comparación, aunque poco valida, del costo de las dietas comerciales con los costos de las dietas experimentales es con el fin de señalar aquellos factores que contribuyen a su distanciamiento, calculado en un 28.57%. Estos factores son: las diferencias (peletizado, rendimiento, costo de ingredientes, mano de obra, etc.) entre el proceso comercial y el aplicado en el Laboratorio de Nutrición, FCB, UANL., los diferentes ingredientes utilizados en ambas fórmulas, siendo que en las dietas experimentales se incluye harina de trigo, harina de camarón, colesterol, cloruro de colina, inositol, metionina, y en las dietas comerciales no es común que éstos se utilicen, por sus costos. La utilidad del comentario es, que a pesar de las exigencias de un medio acuático como el de un laboratorio (aguas de nula productividad primaria, lo cual se debe compensar agregando algunos ingredientes "de lujo", como: colesterol, metionina, etc.), se pueden diseñar fórmulas con una tendencia hacia la similaridad con las comerciales (diseñadas para engordas en condiciones de cultivos semi-intencivos), desistiendo de la inclusión probablemente innecesaria de algunos de éstos ingredientes y solo dejar los imprescindibles. Lo anterior con la consecuente disminución del costo de las dietas.

Por último se comenta una leve desventaja de las harinas experimentales relacionada con su bajo contenido en lípidos, que por un lado permite incluir aceite de pescado que proporciona los ácidos grasos esenciales para el buen desarrollo del camarón, pero al no contener un poco más de esta fracción se deberá sustituir con otra fuente de lípidos (el mismo aceite de pescado, lecitina de soya, etc.). Esto trae por consecuencia que la diferencia por unidad de porcentaje de los lípidos de un ingrediente experimental a base de harina de pluma comparado con la harina de pescado implica un 2.46 % de aumento del costo de la dieta final.

10) CONCLUSIONES

1) Se puede sustituir 18% de la harina de pescado de calidad nacional por harina de pluma hidrolizada enzimáticamente sin mermas en el crecimiento. Sin embargo esto debe tomarse con reserva hasta haber realizado bioensayos en campo.

2) La ruta de transformación resulto adecuada a escala de laboratorio, sin embargo deben analizarse todas las posibilidades tecnológicas si se pretende llevar a escala industrial con un buen rendimiento.

3) El nivel de inclusión señalado reduce el costo de la dieta (con una formula como las utilizadas en el presente trabajo) en un 9.68%.



11) LITERATURA CITADA

- ALDER-NISSEN,J., ERICKSEN,S. & OLSEN,H.S. (1983)** Improvement of the functionality of vegetable proteins by controlled enzymatic analysis, *in: Functional properties of food components. Academic Press, Inc., Pomeranz, Y., Washington State University. Cap. 5. pp. 147-178.*
- AKIYAMA,D.M., S.COELHO, A.L. LAWRENCE & E.H.ROBINSON (1989)** Apparent digestibility of feedstuff by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55(1): 91-98.
- AKIYAMA,D.M. (1986)** The development of a purified diet and nutritional requirement of lysine in penaeid shrimp, Texas A&M University, Cap. IV, pp. 20-40.
- AKIYAMA,D.M. (1991)** Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. *in: Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. Ed. Dean M. Akiyama & Ronnie K.H. Tan. Thailand & Indonesia, 19-25/Sep/1991. American Soybean Association. pp. 80-98.*
- AQUACOP (1978)** Study on nutritional requerimients and growth of *Penaeus merguensis* in tanks by means of purified and artifitial diets. *Proceeidings of the world mariculture society*, 9: 225-234.
- AUSTRENG,E. (1978)** Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract, *Aquaculture*. Vol.13, pp. 265-272.
- BIEROLAI,B., B.IOSIF, H.NEWMARK & E.ALUMONT (1982)** Low nutritional value of feather-meal protein for chiks, In: HARVEY,J.D. Changing waste protein from a waste disposal problem to a valuable feed protein source. A role for enzymes in processing offal, feathers and dead birds. Biotechnology in the feed industry. *Proceedings Alltech's Eight Annual Symposium.*, T.P.Lyond (ed.), Oakville, Ontario, Canada,(1992) pp 109-119.
- BISHOP,C.D. & WATTS,S.A. (1994)** Use of poultry meals as protein source in the cultivation of young tilapia (*Oreochromis niloticus* and *O. aureus*). *World aquaculture 1994*. New orleans, Louisiana, U.S.A., January 14 - 18., pp 179.
- BOGHEN,A.D. & CASTELL,J.D. (1981)** Nutritional value of different dietary proteins to juvenile lobsters, *Homarus americanus*, *Aquaculture*, vol.22, pp.343-351.
- CANACINTRA (1991-1992)** Anuario estadístico de ganadería, porcicultura y avicultura. Editado por la Camara Nacional de la Industria y Comercio, México. 146 p.

CASTRO,L., A.DAVIS & D.C.R.ARNOLD (1993) Evaluation of nutrient digestibility in red drum (*Sciaenops ocellatus*). WAS 93, *European Aquaculture Society Special Publication*. Marine Fish-Poster.

CHO,C.Y. (1987) La Energía de los Nutrientes en los Peces , In: *Nutrición en Acuicultura*, Vol. II. J.Espinosa de los Monteros y U. Labarta (eds), Ed. CAICYT, España. pp.197-237.

CHUBERT,G. (1983) "Estimation des rejets solides chez les poissons", *La Pisciculture Française*. vol.72, pp. 32-40.

CLUET,D. (1990) Advances in the manufacture of aquatic feed by low cost extrusion. The necessity for technology transfer from the advanced user to the new user. Presented at the *World Aquaculture Society Annual Meeting*, Halifax, Canada, 10-14th June, 1990. pp.17.

CLUNIES,M. & LEESON,S. (1984) *In Vitro* estimation of dry matter and crude protein digestibility. *Poultry Science*, vol. 63, pp. 89-96.

COELHO,S. (1984) Effects of environmental salinity and dietary protein levels on digestibility in four species of penaeid shrimp. Thesis for Master of Science degree, Texas A&M University, pp.65.

CRUZ,L.E. (1990) "Fisiología de la digestión de crustáceos y su relación con la composición de los insumos que se deben usar en la formulación de alimentos balanceados", curso taller: Tópicos sobre nutrición y alimentación acuícola, Universidad Autónoma de Morelos, p. 33-42.

CRUZ,L.E., ALONSO,G. & D.RIQUE (1990) Utilisation de la farine de suterelle *Pterophylla beltrani* comme source de proteine dans les aliments pour crevettes. Presented at the *World Aquaculture Society Annual Meeting*, Halifax, Canada, 10-14th June. Abstract. T120 (RT410),1-29 p.

DE LA HIGUERA,M. (1985) Fuentes de proteína y de energía alternativas en acuicultura. Trabajo presentado en el seminario sobre avances tecnológicos y necesidades en acuicultura, organizado por la ASA / Madrid en Sep. 1985. 8 p.

DONG,M.F., R.W.HARDY, F.N.HAASD, F.T.BARROWS, B.RASCO, W.FAIRGRIEVE & LFORSTER (1993) Chemical composition and digestibility of poultry by-product meals for salmonid diets, *Aquaculture*, vol. 116, pp. 149-158.

DUCROO,P. & E.JAKUBCZAK (1977) Valorisation des sous-produits protéiques au moyen de techniques enzymatiques, in: Mensassa,S.A.,1982. Les farines de plumes, leur valeur nutritionnelle en relation avec les traitements physico-chimiques et enzymatiques. Aspects de leur valorisation en tant que protéines de substitution en alimentation animale. Tesis de doctorado en veterinaria, Universidad de Paul Sabatier en Toulouse, Francia, pp. 67.

DUERR,O.E., K.M.LEBER & W.D.FREEMAN (1992) Use of bagasse as a feed input to semi-intensive shrimp growout ponds, *Journal of the World aquaculture society*, Vol. 23, No.1, pp 23-30.

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, U.A.N.L. (1993) Estudio sobre el requerimiento de proteína de postlarvas (1 g.) del camarón blanco del Pacífico, *Penaeus vannamei*. Estudio realizado por los alumnos de maestría en 'Recursos Alimenticios y Producción Acuícola', dirigidos por la Dra. Elizabeth Cruz Suárez., Monterrey, N.L., México.

FAO (1992) Producción de acuicultura, Food and Aquaculture organization of the United Nations, Rome, FIDI/C815, Rev.4.pp. 206.

FEEDSTUFFS (1993) Feedstuffs. The weekly newspaper for agribusiness. Special Issue. June/7.,Vol. 65, No. 23. 46 p.

FORSTER (1993) Chemical composition and protein digestibility of poultry by-product meals for salmonid diets. *Aquaculture*, 116. 149-158.

FROINING,W.G. & BERGQUIST,D. (1990) Resarch note: Utilization of inedible eggshells and technical egg white using extrusion technology, *Poultry Science*, vol.69, pp 2051- 2053.

GALGANI, F., Y. BENYAMIN & H.J.CECCALDI (1985) Etude de la Trypsine des Crustaces peneids. Pages 139-148, *in: Colloque Franco-Japonais d'Océanographie*, Marseilles, France.

GILL,C. (1989) Protein from poultry wastes. Reprint from the january, 1989 issue of *Feed Management*. pp. 51-54.

GRABNER,M. (1985) An in vitro method for measuring protein digestibility of fish feed components, *In: Mendoza,A.R. 1993. Utilización de fuentes de proteína no convencional y reciclamiento de sub-productos para acuicultura*, *In: Memorias del primer simposium internacional de nutrición y tecnología de alimentos para acuicultura*, Cruz,E., D.M.Ricque y R.A.Mendoza (eds). Monterrey, México. pp 155-202.

HAQUE,A.K.M.A., LYONS,J.J., and VANDEPOPULIERE,J.M. (1991) Extrusion processing of broiler starter diets containing ground whole hens, poultry by-product meal, feather meal, or ground feathers, *Poultry Science*, vol. Vol.70, pp. 234-240.

HARDY, R. W. (1991) Fish hydrolysates. Production and use in aquaculture feeds, *in: Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop*. Ed. Dean M. Akiyama & Ronnie K.H. Tan. Thailand & Indonesia, 19-25/Sep/1991. American Soybean Association. pp. 109-115.

HARVEY, J.D. (1992) Changing waste protein from a waste disposal problem to a valuable feed protein source. A role for enzymes in processing offal, feathers and dead birds. *Biotechnology in the feed industry. Proceedings Alltech's Eight Annual Symposium*. T.P. Lyond (ed.), Oakville, Ontario, Canada, pp 109-119.

KASTELL, A. (1961) Die bestimmung der verdaulichkeit des rohproteins auf kunstlichem wege. In: Johnston, J., & Coon, N.C., The use of varying levels of pepsin for pepsin digestion studies with animal proteins, *Poultry Science*, (1979). 58: 1271-1273.

KANAZAWA, A. (1990) The nutrition and feed of prawns and shrimp. Takeda Chemical Industries, LTD., Food and Vitamin Div., Japan., pp 1-20.

KEARNS, P.J. (1990) Método Wegner para la extrusión de alimentos acuícolas, In: Memorias del seminario sobre '*Extrusión de Alimentos Balanceados*', Editado por Asociación Americana de Soya, Guadalajara, Jal., México, pp 56-90.

KIANG, M-J. (1990) La extrusión como herramienta para mejorar el valor nutritivo de los alimentos; Memorias del seminario, '*Extrusión de Alimentos Balanceados*', Editado por Asociación Americana de Soya, Guadalajara, Jal., México, p.p. 23-39.

KIKUCHI, K., FURUTA, T. & HONDA, H. (1994) Utilization of feather meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fisheries Science*. Vol. 60(2), pp 203 - 206.

KLING M. & W. WOELBIER (1977) Handelsfuttermittel. Tomo 1. Editorial Ulmer, Stuttgart, Alemania. 616 p. Consulta de la tabla 'Contenido de aminoácidos de harina de pluma tratada y no tratada, 274 p.

LAWRENCE, A. L. & CASTILLE, F. (1991) Nutritional response of a western hemisphere shrimp *Penaeus vannamei*, to meat and bone, feather and poultry by-products meals. Fats and proteins research foundation, Inc. Directors digest. No. 215., 54 - 56.

LAZO, J.P. (1993) "Evaluation of several *in vitro* enzyme assays for estimating *in vivo* apparent protein digestibility by the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*", Thesis Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College. pp 62.

LOVELL, R.T. (1992) Fish farming: designing protein sources for tomorrow's world, *Biotechnology in the feed industry*, Proceedings Alltech's eighth annual symposium. T.P. Lyond (ed), pp 236-252.

MANRIQUEZ J. & J.J. ROMERO (1993) Determinación de la digestibilidad del alimento utilizado en la salmicultura. Una herramienta para su certificación ambiental. Seminario Internacional de Acuicultura y Medio Ambiente. Santiago 2-3 Sept. 1993. Fundación Chile, pp. 189.

MENASSA, S. A. (1982) Les farines de plumes, leur valeur nutritionnelle en relation avec les traitements physico-chimiques et enzymatiques. Aspects de leur valorisation en tant que protéines de substitution en alimentation animale. Tesis de doctorado en veterinaria, Universidad de Paul Sabatier en Toulouse, Francia, pp. 67.

MENDOZA, A.R. (1993) Utilización de fuentes de proteína no convencional y reciclamiento de sub-productos para acuicultura, In: Memorias del primer simposium internacional de nutrición y tecnología de alimentos para acuicultura, Cruz, E., D.M. Ricque y R.A. Mendoza (eds). Monterrey, México. pp 155-202..

MEYERS, P.S. (1990) Basics of aquaculture and aquaculture feed, *Food Science department*, Louisiana State University, Chapter 90, pp 1-27.

MOUGHAN, P., J.SCHRAMA, G.SKILTON & W.SMITH (1989) In vitro determination of nitrogen digestibility and lysine availability in meat and bone meals and comparison with in vivo ileal digestibility estimates, In: Mendoza, A.R. 1993. Utilización de fuentes de proteína no convencional y reciclamiento de sub-productos para acuicultura, In: Memorias del primer simposium internacional de nutrición y tecnología de alimentos para acuicultura, Cruz, E., D.M. Ricque y R.A. Mendoza (eds). Monterrey, México. pp 155-202.

NABIL, W. (1992) Extrusion of secondary resources (by-products rendering). Feed extrusion. Triple "F" Inc. In: *Feeds extrusion manual for practical short course in feed extrusion*, Texas A & M University system, College Station, Tx. Lusas, E., G. Guzman and S. Doty (eds) January, 1993, pp. 11.

NEW, M. (1976) A review of dietary studies with shrimp and prawn. *Aquaculture*, 9: 101- 144.

NIETO, M.G.L. (1995) "Efecto de las diferencias en el procesamiento de las harinas de pescado y la toxicidad de las mismas, sobre la digestibilidad aparente en el camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei* Boone), en condiciones de laboratorio", Tesis de la Universidad Autónoma de Nuevo León, pp.99.

NOSE, T. (1964) Protein digestibility of several test diet in cray and prawn fish, *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. Tokyo*, 14 : 24 - 28.

NRC (1983) Nutrient requirements of warmwater fish & shellfish. *National Academy of Sciences*, Natl. Res. Council. Washington, D.C. pp. 102.

NRC (1993) Nutrient requirements of fish. *Animal Nutrition Board on Agriculture National Reserch Council*, Natl. Acad. Press. Washington, D.C. pp. 102.

PARSONS, C. (1993) Ventajas de utilizar valores de digestibilidad en la formulación de alimentos para aves. Memorias del Seminario Técnico sobre Nutrición Avícola, Monterrey, N.L., 25/Marzo/1993.

PRENASETTA (1982) Agro-developpement 13 Rue Valery - 75 775 Paris, in: NASSA, S. A. 1982. Les farines de plumes, leur valeur nutritionnelle en relation avec les traitements physico-chimiques et enzymatiques. Aspects de leur valorisation en tant que protéines de substitution en alimentation animale. Tesis de doctorado en veterinaria, Universidad de Paul Sabatier en Toulouse, Francia, pp. 67.

SANCHEZ,J.L.M. (1995) Evaluación de dos hidrolizados de pescado como fuente de proteína en dietas para el camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de la Universidad Autónoma de Nuevo León, pp. 52.

SANDERS,K.M. (1992) Better aquaculture feeds, *Seafood Leader*, Chap, 90-A, Jan/Feb, pp. 111-119.

SATTERLEE,L.D., J.G.KENDRICK & G.A.MILLER (1977) Rapid *in-vitro* assays for estimating protein quality. *Food Technology*, June, p.78-81.

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

SPYRIDAKIS,P., J. GABAUNDAN,J. & A. RIAZA (1988) Digestibilité des protéines et disponibilité des acides aminés de quelques matieres premieres chez la bar (*Dicentrarchus labrax*). *Reprod. Nut. Develop.* Vol. 28(6A). pp. 1509-1517.

STEELE D.R.G. & H.J. TORRIE (1985) Bioestadística. Principios y procedimientos, 2a ed. Ed. McGraw-Hill, México, 622 p.

STEFFENS, W. (1994) Replacing fish meal with poultry by-product meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. No. 124. pp. 27-34.

SUMMERS, J. D. (1969) Feedstuffs, March 15, pp. 36-37, Guelf In: Menassa, S A. (1982) Les farines de plumes, leur valeur nutritionnelle en relation avec les traitements physico-chimiques et enzymatiques. Aspects de leur valorisation en tant que protéines de substitution en alimentation animale. Tesis de doctorado en veterinaria, Universidad de Paul Sabatier en Toulouse, Francia, pp. 67.

TACON A.G.J. (1989) Nutricion y alimentacion de peces y camarones cultivados. Manual de capacitacion. Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion, Brasil.

TADTIYANANT,C., LYONS,J.J. & VANDEPOPULIERE, J.M. (1993) Extrusion processing used to convert dead poultry, feathers, eggshells, hatchery waste, and mechanically deboned residue into feedstuffs for poultry, *Poultry Science*, Columbia Missouri, vol.72, pp. 1515-1527.

TELLEZ, S.R. (1982) Utilización de la harina de pollo como fuente de proteína en la alimentación animal. Tesis de Licenciatura, U.A.N.L. Facultad de Agronomía, pp. 4-7.

TIEWS, K., J.GROPP & H.KOOPSH (1976) *Ausch. Fisch. Wiss.* In: DE LA HIGUERA, M. Fuentes de proteína y de energía alternativas en acuicultura. Trabajo presentado en el seminario sobre avances tecnológicos y necesidades en acuicultura, organizado por la ASA / Madrid en Sep. 1985. 8 p.

WILLIAMS, M. (1990) Preparación de alimentos balanceados por extrusión; Memorias del seminario sobre 'Extrusión de Alimentos Balanceados'. Editado por Asociación Americana de Soya, p.p. 52-55.

WINDELL, et al. (1978) "Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies", *Prog. Fish-Cult.* vol 40, pp. 51-55.

WOODROOFE, J.M. (1993) Dry extrusion applications in the feed industry. Rural Pacific Pty Ltd. P O Box 496. Wooden, Victoria 3442, Australia. pp 15.

ZENDEJAS, J.H. (1993) Situación actual y perspectivas de la industria de alimentos balanceados para acuicultura en México, en: Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Cruz, L.E., Rique, M.D. y Mendoza, R.A. (eds) Monterrey, México, 1993. p.3-24

ANEXOS

- 1) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE**
- 2) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA CONTROL, CON % DE INCLUSION**
- 3) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP60ex, CON % DE INCLUSION**
- 4) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP60ex2, CON % DE INCLUSION**
- 5) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HPHCex, CON % DE INCLUSION**
- 6) **APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP120ex, CON % DE INCLUSION**
- 7) **NIVEL DE SUPLEMENTACION VITAMINICA DE LA MEZCLA INLUIDA EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES.**
- 8) **ANALISIS DE LOS NUTRIENENTES DE LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES**
- 9) **VALORES DE LOS PARAMETROS ZOOTECNICOS**
- 10a) **GRAFICA RESULTANTE DE LA TECNICA pH-SHIFT (Satterlee, 1977; Lazo, 1994).**
- 10b) **GRAFICA RESULTANTE DE LA TECNICA pH-SHIFT, MODIFICADA POR EL Dr. R.MENDOZA A. Y EL Ocean. A.DE DIOS U.**

ANEXO 1

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE							
INGREDIENTE	H.Pescado	H.Camaron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Aceite de	Lecitina
NUTRIENTE						pescado	
Humedad	3.05	3.719	9.772	3.932	7.376	0	3
Mat.Seca	96.95	96.281	90.228	96.068	92.642	100	97
Proteina cruda	70.264	46.962	14.206	81.333	46.493	0	0
Grasa cruda	4.454	2.605	1.905	0.178	0.265	99.98	90
Fibra cruda	0.961	8.318	0.902	0.119	2.065	0	0
Ceniza	11.955	29.463	1.449	0.732	5.894	0	0
E.L.N.	9.316	8.933	73.016	14.437	31.924	0	0
Arginina	3.663	2.443	0.73	1.115	3.026	0	0
Histidina	1.568	0.765	0.33	0.38	1.094	0	0
Isoeucina	2.941	1.66	0.525	0.653	2.343	0	0
Leucina	4.804	2.47	0.983	0.88	3.377	0	0
Leucina	4.952	2.535	0.45	0.83	2.723	0	0
Metionina	1.886	0.86	0.225	0.27	0.577	0	0
Cistina	0.632	0.495	0.328	0.337	0.655	0	0
Fenilalanina	2.58	1.67	0.653	0.585	2.058	0	0
Tirosina	2.07	1.37	0.437	0.56	1.453	0	0
Treonina	2.731	1.485	0.428	0.593	1.742	0	0
Triptofano	0.726	0.37	0.177	0.293	0.626	0	0
Valina	3.393	1.665	0.66	0.785	2.16	0	0
Cl de colina	3545	5.498	916.5	2100	2629.75	0	3.6
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	3.933	9.715	0.047	0.08	0.27	0	0.065
Fosforo	2.456	1.82	0.382	1.105	1.922	0.1	3
Potasio	0.81	0.815	0.404	0.15	1.54	0	0.8
Cloro	0.928	1.02	0.057	0.08	0.068	0	0
Magnesio	0.217	0.52	0.158	0.34	0.263	0	0.09
Sodio	0.821	1.535	0.028	0.055	0.078	0	0.03
Azufre	0.672	0.52	0.18	0.32	0.37	0.06	0
Cobre	8.323	1.535	5.058	8.9	24.585	4.988	0
Fierro	274.68	105	39.4	110	146.8	0	0.002
Manganeso	14.663	30	36.888	101	37.383	0	0.09
Selenio	2.19	105	0.233	110	0.15	0	0
Zinc	112.62	28	33.872	101	53.5	0	0
Fosfolipidos	0	0.25	0	0	0	0.09	94
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Co esterol	0	0.01	0	0	0	0	0
18:2N6	0.002	0.001	0.001	0	0	3	57.9
18:3N3	0.001	0.001	0	0	0	1	6
20:5N3	0.027	0.001	0	0	0	13	0.001
22:6N3	0.024	0.001	0	0	0	8	0.001
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 1

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE								
INGREDIENTE	Mezcla	ETQ	Coolesterol	Inositol	NaH2PO3	Stay C	Metionina	Cloruro
NUTRIENTE	Vit.							de colina
Humedad	0	0	0	0	0	0	0	0
Mat.Seca	100	100	100	100	100	100	100	100
Protelna cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Grasa cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibra cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceniza	0	0	0	0	0	0	0	0
E.L.N.	0	0	0	0	0	0	0	0
Arginina	0	0	0	0	0	0	0	0
Histidina	0	0	0	0	0	0	0	0
Isoleucina	0	0	0	0	0	0	0	0
Leucina	0	0	0	0	0	0	0	0
Lisina	0	0	0	0	0	0	0	0
Metionina	0	0	0	0	0	0	95	0
Cistina	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenilalanina	0	0	0	0	0	0	0	0
Tirosina	0	0	0	0	0	0	0	0
Treonina	0	0	0	0	0	0	0	0
Triptofano	0	0	0	0	0	0	0	0
Valina	0	0	0	0	0	0	0	0
Cl de collna	0	0	0	0	0	0	0	52.2
Vitamina C	0	0	0	0	0	15	0	0
Calcio	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosforo	0	0	0	0	24.79	0	0	0
Potasio	0	0	0	0	0	0	0	0
Cloro	0	0	0	0	0	0	0	7.8
Magnesio	0	0	0	0	0	0	0	0
Sodio	0	0	0	0	32	0	0	0
Azufre	0	0	0	0	0	0	0	0
Cobre	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferro	0	0	0	0	0	0	0	0
Manganeso	0	0	0	0	0	0	0	0
Selenio	0	0	0	0	0	0	0	0
Zinc	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosfolipidos	0	0	0	0	0	0	0	0
Inositol	0	0	0	98.98	0	0	0	0
Coolesterol	0	0	95.99	0	0	0	0	0
18:2N6	0	0	0	0	0	0	0	0
18:3N3	0	0	0	0	0	0	0	0
20:5N3	0	0	0	0	0	0	0	0
22:6N3	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezcla VIT	100	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	100	0	0	0	0	0	0

ANEXO 2

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA CONTROL, CON % DE INCLUSION							
INGREDIENTE	H.Pescado	H.Camaron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Ac.Menhaden	Lecitina
NUTRIENTE	18.40%	4.30%	48.30%	4.00%	17.00%	2.50%	2.00%
Humedad	0.5612	0.159917	4.71988	0.15728	1.25392	0	0.06
Mat.Seca	17.8388	4.140083	43.5801	3.84272	15.7491	2.5	1.94
Proteína cruda	12.92858	2.019366	6.8615	3.25332	7.90381	0	0
Grasa cruda	0.819536	0.112015	0.92012	0.00712	0.04505	2.4995	1.8
Fibra cruda	0.176824	0.357674	0.43567	0.00476	0.35105	0	0
Ceniza	2.19972	1.266909	0.69987	0.02928	1.00198	0	0
E.L.N.	1.714144	0.384119	35.2667	0.57748	5.42708	0	0
Arginina	0.673992	0.105049	0.35259	0.0446	0.51442	0	0
Histidina	0.288512	0.032895	0.15939	0.0152	0.18598	0	0
Isoleucina	0.541144	0.07138	0.25358	0.02612	0.39831	0	0
Leucina	0.883936	0.10621	0.47479	0.0352	0.57409	0	0
Lisina	0.911168	0.109005	0.21735	0.0332	0.46291	0	0
Metionina	0.347024	0.03698	0.10868	0.0108	0.09809	0	0
Cistina	0.116288	0.021285	0.15842	0.01348	0.11135	0	0
Fenilalanina	0.47472	0.07181	0.3154	0.0234	0.34986	0	0
Tirosina	0.38088	0.05891	0.21107	0.0224	0.24701	0	0
Treonina	0.502504	0.063855	0.20672	0.02372	0.29614	0	0
Triptofano	0.133584	0.01591	0.08549	0.01172	0.10642	0	0
Valina	0.624312	0.071595	0.31878	0.0314	0.3672	0	0
Cl de colina	652.28	0.236414	442.67	84	447.058	0	0.072
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	0.723672	0.417745	0.0227	0.0032	0.0459	0	0.0013
Fosforo	0.451904	0.07826	0.18451	0.0442	0.32674	0.0025	0.06
Potasio	0.14904	0.035045	0.19513	0.006	0.2618	0	0.016
Cloro	0.170752	0.04386	0.02753	0.0032	0.01156	0	0
Magnesio	0.039928	0.02236	0.07631	0.0136	0.04471	0	0.0018
Sodio	0.151064	0.066005	0.01352	0.0022	0.01326	0	0.0006
Azufre	0.123648	0.02236	0.08694	0.0128	0.0629	0.0015	0
Cobre	1.531432	0.066005	2.44301	0.356	4.17945	0.1247	0
Ferro	50.54112	4.515	19.0302	4.4	24.956	0	0.00004
Manganeso	2.697992	1.29	17.8169	4.04	6.35511	0	0.0018
Selenio	0.40296	4.515	0.11254	4.4	0.0255	0	0
Zinc	20.72208	1.204	16.3602	4.04	9.095	0	0
Fosfolipidos	0	0.01075	0	0	0	0.00225	1.88
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Colesterol	0	0.00043	0	0	0	0	0
18:2N6	0.000368	0.000043	0.00048	0	0	0.075	1.158
18:3N3	0.000184	0.000043	0	0	0	0.025	0.12
20:5N3	0.004968	0.000043	0	0	0	0.325	0.00002
22:6N3	0.004416	0.000043	0	0	0	0.2	0.00002
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO 2

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA CONTROL, CON % DE INCLUSION								
INGREDIENTE	M.Vit.	ETQ	Colesterol	Inositol	NaH2PO3	Stay C	Metionina	Cl Colina
NUTRIENTE	0.22%	0.02%	0.54%	0.03%	0.40%	0.03%	0.20%	0.08%
Humedad	0	0	0	0	0	0	0	0
Mat.Seca	0.22	0.02	0.54	0.031	0.4	0.025	0.2	0.076
Proteina cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Grasa cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibra cruda	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceniza	0	0	0	0	0	0	0	0
E.L.N.	0	0	0	0	0	0	0	0
Arginina	0	0	0	0	0	0	0	0
Histidina	0	0	0	0	0	0	0	0
Isoleucina	0	0	0	0	0	0	0	0
Leucina	0	0	0	0	0	0	0	0
Lisina	0	0	0	0	0	0	0	0
Metionina	0	0	0	0	0	0	0.19	0
Cistina	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenilalanina	0	0	0	0	0	0	0	0
Tirosina	0	0	0	0	0	0	0	0
Treonina	0	0	0	0	0	0	0	0
Triptofano	0	0	0	0	0	0	0	0
Valina	0	0	0	0	0	0	0	0
Cl de colina	0	0	0	0	0	0	0	0.03967
Vitamina C	0	0	0	0	0	0.004	0	0
Calcio	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosforo	0	0	0	0	0.09916	0	0	0
Potasio	0	0	0	0	0	0	0	0
Coro	0	0	0	0	0	0	0	0.00593
Magnesio	0	0	0	0	0	0	0	0
Sodio	0	0	0	0	0.128	0	0	0
Azufre	0	0	0	0	0	0	0	0
Cobre	0	0	0	0	0	0	0	0
Fierro	0	0	0	0	0	0	0	0
Manganeso	0	0	0	0	0	0	0	0
Selenio	0	0	0	0	0	0	0	0
Zinc	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosfolipidos	0	0	0	0	0	0	0	0
Inositol	0	0	0	0.03068	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0.518346	0	0	0	0	0
18:2N6	0	0	0	0	0	0	0	0
18:3N3	0	0	0	0	0	0	0	0
20:5N3	0	0	0	0	0	0	0	0
22:6N3	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezcla VIT	0.22	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0.02	0	0	0	0	0	0

ANEXO 3

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP60ex, CON % DE INCLUSION							
INGREDIENTE	H.Pescado	HEP60ex	H.Camaron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Ac.Menhaden
NUTRIENTE	9.00%	14.56%	4.30%	47.55%	4.00%	12.30%	2.58%
Humedad	0.44408	0.78993	0.159917	4.646586	0.15728	0.907248	0
Mat.Seca	14.11592	8.21007	4.140083	42.903414	3.84272	11.39497	2.58
Proteina cruda	10.230438	5.00301	2.019366	6.754953	3.25332	5.718639	0
Grasa cruda	0.6485024	0.11844	0.112015	0.9058275	0.00712	0.032595	2.579484
Fibra cruda	0.1399216	0.20556	0.357674	0.428901	0.00476	0.253995	0
Ceniza	1.740648	0.81774	1.266909	0.6889995	0.02928	0.724962	0
E.L.N.	1.3564096	2.06523	0.384119	34.719108	0.57748	3.926652	0
Arginina	0.5333328	0.49347	0.105049	0.347115	0.0446	0.372198	0
Histidina	0.2283008	0.05598	0.032895	0.156915	0.0152	0.134562	0
Isoleucina	0.4282096	0.34155	0.07138	0.2496375	0.02612	0.288189	0
Leucina	0.6994624	0.62163	0.10621	0.4674165	0.0352	0.415371	0
Lisina	0.7210112	0.14868	0.109005	0.213975	0.0332	0.334929	0
Metionina	0.2746016	0.04995	0.03698	0.1069875	0.0108	0.070971	0
Cistina	0.0920192	0.33678	0.021285	0.155964	0.01348	0.080565	0
Fenilalanina	0.375648	0.32418	0.07181	0.3105015	0.0234	0.253134	0
Tirosina	0.301392	0.21132	0.05891	0.2077935	0.0224	0.178719	0
Treonina	0.3976336	0.32769	0.063855	0.203514	0.02372	0.214266	0
Triptofano	0.1057056	0.04977	0.01591	0.0841635	0.01172	0.076998	0
Valina	0.4940208	0.53082	0.071595	0.31383	0.0314	0.26568	0
Cl de colina	516.152	79.08003	0.236414	435.79575	84	323.4593	0
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	0.5726448	0.0297	0.417745	0.0223485	0.0032	0.03321	0
Fosforo	0.3575936	0.04428	0.07826	0.181641	0.0442	0.236406	0.00258
Potasio	0.117936	0.01854	0.035045	0.192102	0.006	0.18942	0
Cloro	0.1351168	0.01395	0.04386	0.0271035	0.0032	0.008364	0
Magnesio	0.0315952	0.01593	0.02236	0.075129	0.0136	0.032349	0
Sodio	0.1195376	0.02799	0.066005	0.013314	0.0022	0.009594	0
Azufre	0.0978432	0.1251	0.02236	0.08559	0.0128	0.04551	0.001548
Cobre	1.2118288	0.77553	0.066005	2.405079	0.356	3.023955	0.1286904
Fierro	39.993408	6.59997	4.515	18.7347	4.4	18.0564	0
Manganeso	2.1349328	0.97974	1.29	17.540244	4.04	4.598109	0
Selenio	0.318864	0.06102	4.515	0.1107915	4.4	0.01845	0
Zinc	16.397472	6.36228	1.204	16.106136	4.04	6.5805	0
Fosfolípidos	0	0	0.01075	0	0	0	0.002322
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0.00043	0	0	0	0
18:2N6	0.0002912	0.00018	0.000043	0.0004755	0	0	0.0774
18:3N3	0.0001456	0.00018	0.000043	0	0	0	0.0258
20:5N3	0.0039312	0	0.000043	0	0	0	0.3354
22:6N3	0.0034944	0	0.000043	0	0	0	0.2064
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

HEP60ex hidrolizado enzimático de pluma a 60 minutos, co-extruido con pasta de soya

ANEXO 4

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP60ex2, CON % DE INCLUSION							
INGREDIENTE	H.Pescado	HEP60ex	H.Camaron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Ac.Menhaden
NUTRIENTE	10.49%	18.00%	4.30%	47.12%	4.00%	7.80%	2.58%
Humedad	0.319945	1.57986	0.159917	4.604566	0.15728	0.57533	0
Mat.Seca	10.17006	16.42014	4.140083	42.51543	3.84272	7.22608	2.58
Proteina cruda	7.370694	10.00602	2.019366	6.693867	3.25332	3.62645	0
Grasa cruda	0.467225	0.23688	0.112015	0.897636	0.00712	0.02067	2.579484
Fibra cruda	0.100809	0.41112	0.357674	0.425022	0.00476	0.16107	0
Ceniza	1.25408	1.63548	1.266909	0.682769	0.02928	0.45973	0
E.L.N.	0.977248	4.13046	0.384119	34.40514	0.57748	2.49007	0
Arginina	0.384249	0.98694	0.105049	0.343976	0.0446	0.23603	0
Histidina	0.164483	0.11196	0.032895	0.155496	0.0152	0.08533	0
Isoleucina	0.308511	0.6831	0.07138	0.24738	0.02612	0.18275	0
Leucina	0.50394	1.24326	0.10621	0.46319	0.0352	0.26341	0
Lisina	0.519465	0.29736	0.109005	0.21204	0.0332	0.21239	0
Metionina	0.197841	0.0999	0.03698	0.10602	0.0108	0.04501	0
Cistina	0.066297	0.67356	0.021285	0.154554	0.01348	0.05109	0
Fenilalanina	0.270642	0.64836	0.07181	0.307694	0.0234	0.16052	0
Tirosina	0.217143	0.42264	0.05891	0.205914	0.0224	0.11333	0
Treonina	0.286482	0.65538	0.063855	0.201674	0.02372	0.13588	0
Triptofano	0.076157	0.09954	0.01591	0.083402	0.01172	0.04883	0
Valina	0.355926	1.06164	0.071595	0.310992	0.0314	0.16848	0
Cl de colina	371.8705	158.1601	0.236414	431.8548	84	205.121	0
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	0.412572	0.0594	0.417745	0.022146	0.0032	0.02106	0
Fosforo	0.257634	0.08856	0.07826	0.179998	0.0442	0.14992	0.00258
Potasio	0.084969	0.03708	0.035045	0.190365	0.006	0.12012	0
Cloro	0.097347	0.0279	0.04386	0.026858	0.0032	0.0053	0
Magnesio	0.022763	0.03186	0.02236	0.07445	0.0136	0.02051	0
Sodio	0.086123	0.05598	0.066005	0.013194	0.0022	0.00608	0
Azufre	0.070493	0.2502	0.02236	0.084816	0.0128	0.02886	0.001548
Cobre	0.873083	1.55106	0.066005	2.38333	0.356	1.91763	0.1286904
Fierro	28.81393	13.19994	4.515	18.56528	4.4	11.4504	0
Manganeso	1.538149	1.95948	1.29	17.38163	4.04	2.91587	0
Selenio	0.229731	0.12204	4.515	0.10979	4.4	0.0117	0
Zinc	11.81384	12.72456	1.204	15.96049	4.04	4.173	0
Fosfolípidos	0	0	0.01075	0	0	0	0.002322
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0.00043	0	0	0	0
18:2N6	0.00021	0.00036	0.000043	0.000471	0	0	0.0774
18:3N3	0.000105	0.00036	0.000043	0	0	0	0.0258
20:5N3	0.002832	0	0.000043	0	0	0	0.3354
22:6N3	0.002518	0	0.000043	0	0	0	0.2064
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

HEP60ex, hidrolizado enzimático de pluma a 60 minutos, co-extruido con pasta de soya

ANEXO 5

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HPHCex, CON % DE INCLUSION							
INGREDIENTE	H.Pescado	HPHCex	H.Cameron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Ac.Menhaden
NUTRIENTE	13.70%	14.56%	4.30%	45.40%	4.00%	12.30%	1.00%
Humedad	0.44408	0.105216	0.159917	4.43649	0.157	0.907	0
Mat.Seca	14.11592	13.59478	4.140083	40.9635	3.843	11.39	1
Proteina cruda	10.2304384	6.822874	2.019366	6.44952	3.253	5.719	0
Grasa cruda	0.6485024	2.193507	0.112015	0.86487	0.007	0.033	0.9998
Fibra cruda	0.1399216	0.251943	0.357674	0.40951	0.005	0.254	0
Ceniza	1.740648	0.614445	1.266909	0.65785	0.029	0.725	0
E.L.N.	1.3564096	3.694205	0.384119	33.1493	0.577	3.927	0
Arginina	0.5333328	0.78501	0.105049	0.33142	0.045	0.372	0
Histidina	0.2283008	0.13426	0.032895	0.14982	0.015	0.135	0
Isoleucina	0.4282096	0.55074	0.07138	0.23835	0.026	0.288	0
Leucina	0.6994624	0.89324	0.10621	0.44628	0.035	0.415	0
Lisina	0.7210112	0.214405	0.109005	0.2043	0.033	0.335	0
Metionina	0.2746016	0.09453	0.03698	0.10215	0.011	0.071	0
Cistina	0.0920192	0.5891	0.021285	0.14891	0.013	0.081	0
Fenilalanina	0.375648	0.56992	0.07181	0.29646	0.023	0.253	0
Tirosina	0.301392	0.26715	0.05891	0.1984	0.022	0.179	0
Treonina	0.3976336	0.5754	0.063855	0.19431	0.024	0.214	0
Triptofano	0.1057056	0.006165	0.01591	0.08036	0.012	0.077	0
Valina	0.4940208	0.840495	0.071595	0.29964	0.031	0.266	0
Cl de coina	516.152	120.3774	0.236414	416.091	84	323.5	0
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	0.5726448	0.04521	0.417745	0.02134	0.003	0.033	0
Fosforo	0.3575936	0.067404	0.07826	0.17343	0.044	0.236	0.001
Potasio	0.117936	0.028222	0.035045	0.18342	0.006	0.189	0
Cloro	0.1351168	0.021235	0.04386	0.02588	0.003	0.008	0
Magnesio	0.0315952	0.024249	0.02236	0.07173	0.014	0.032	0
Sodio	0.1195376	0.042607	0.066005	0.01271	0.002	0.01	0
Azufre	0.0978432	0.19043	0.02236	0.08172	0.013	0.046	0.0006
Cobre	1.2118288	1.180529	0.066005	2.29633	0.356	3.024	0.04988
Fierro	39.993408	10.04662	4.515	17.8876	4.4	18.06	0
Manganeso	2.1349328	1.491382	1.29	16.7472	4.04	4.598	0
Selenio	0.318864	0.092886	4.515	0.10578	4.4	0.018	0
Zinc	16.397472	9.684804	1.204	15.3779	4.04	6.581	0
Fosfolipidos	0	0	0.01075	0	0	0	0.0009
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0.00043	0	0	0	0
18:2N6	0.0002912	0.000274	0.000043	0.00045	0	0	0.03
18:3N3	0.0001456	0.000274	0.000043	0	0	0	0.01
20:5N3	0.0039312	0	0.000043	0	0	0	0.13
22:6N3	0.0034944	0	0.000043	0	0	0	0.08
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

HPHCex, harina de pluma hidrolizada por cocción, co-extruida con pasta de soya

ANEXO 5

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HPHCex, CON % DE INCLUSION									
INGREDIENTE	Lectina	M.Vit.	ETQ	Colesterol	Inositol	NaH2PO3	Stay C	Metionina	Cl Colina
NUTRIENTE	1.15%	0.22%	0.02%	0.59%	0.03%	0.80%	0.03%	0.22%	0.08%
Humedad	0.0345	0	0	0	0	0	0	0	0
Mat.Seca	1.1155	0.22	0.02	0.59	0.031	0.603	0.025	0.217	0.076
Proteina cruda	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grasa cruda	1.035	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibra cruda	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceniza	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E.L.N.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arginina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Histidina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Isoleucina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Leucina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lisina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Met'onina	0	0	0	0	0	0	0	0.20615	0
Cistina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenilalanina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tirosina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Treonina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Triptofano	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Valina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cl de colina	0.0414	0	0	0	0	0	0	0	0.03967
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0.0038	0	0
Calcio	0.00075	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosforo	0.0345	0	0	0	0	0.149484	0	0	0
Potasio	0.0092	0	0	0	0	0	0	0	0
Cloro	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00593
Magnesio	0.00104	0	0	0	0	0	0	0	0
Sodio	0.00035	0	0	0	0	0.19296	0	0	0
Azufre	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cobre	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferro	2.3E-05	0	0	0	0	0	0	0	0
Manganeso	0.00104	0	0	0	0	0	0	0	0
Selenio	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zinc	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosfolpidos	1.081	0	0	0	0	0	0	0	0
inositol	0	0	0	0	0.0307	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0	0.566341	0	0	0	0	0
18:2N6	0.66585	0	0	0	0	0	0	0	0
18:3N3	0.069	0	0	0	0	0	0	0	0
20:5N3	1.2E-05	0	0	0	0	0	0	0	0
22:6N3	1.2E-05	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezcla VIT	0	0.22	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0.02	0	0	0	0	0	0

ANEXO 6

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP120ex. CON % DE INCLUSION							
INGREDIENTE	H.Pescado	HEP120ex	H.Cameron	H.Trigo	G.Trigo	P.Soya	Ac.Menhaden
NUTRIENTE	14.56%	9.07%	4.30%	47.49%	4.00%	12.30%	2.58%
Humedad	0.44408	0.80469237	0.159917	4.640723	0.15728	0.907248	0
Mat.Seca	14.11592	8.26430763	4.140083	42.84928	3.84272	11.39497	2.58
Proteina cruda	10.230438	5.00300454	2.019366	6.746429	3.25332	5.718639	0
Grasa cruda	0.6485024	0.11780631	0.112015	0.904685	0.00712	0.032595	2.579484
Fibra cruda	0.1399216	0.20695458	0.357674	0.42836	0.00476	0.253995	0
Ceniza	1.740648	0.86527329	1.266909	0.68813	0.02928	0.724962	0
E.L.N.	1.3564096	2.07126891	0.384119	34.6753	0.57748	3.926652	0
Arginina	0.5333328	0.49725327	0.105049	0.346677	0.0446	0.372198	0
Histidina	0.2283008	0.05640918	0.032895	0.156717	0.0152	0.134562	0
Isoleucina	0.4282096	0.34416855	0.07138	0.249323	0.02612	0.288189	0
Leucina	0.6994624	0.62639583	0.10621	0.466827	0.0352	0.415371	0
Lisina	0.7210112	0.14981988	0.109005	0.213705	0.0332	0.334929	0
Metionina	0.2746016	0.05033295	0.03698	0.106853	0.0108	0.070971	0
Cistina	0.0920192	0.33936198	0.021285	0.155767	0.01348	0.080565	0
Fenilalanina	0.375648	0.32666538	0.07181	0.31011	0.0234	0.253134	0
Tirosina	0.301392	0.21294012	0.05891	0.207531	0.0224	0.178719	0
Treonina	0.3976336	0.33020229	0.063855	0.203257	0.02372	0.214266	0
Triptofano	0.1057056	0.05015157	0.01591	0.084057	0.01172	0.076998	0
Valina	0.4940208	0.53488962	0.071595	0.313434	0.0314	0.26568	0
Cl de colina	516.152	79.6863102	0.236414	435.2459	84	323.4593	0
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0
Calcio	0.5726448	0.0299277	0.417745	0.02232	0.0032	0.03321	0
Fosforo	0.3575936	0.04461948	0.07826	0.181412	0.0442	0.236406	0.00258
Potasio	0.117936	0.01868214	0.035045	0.19186	0.006	0.18942	0
Cloro	0.1351168	0.01405695	0.04386	0.027069	0.0032	0.008364	0
Magnesio	0.0315952	0.01605213	0.02236	0.075034	0.0136	0.032349	0
Sodio	0.1195376	0.02820459	0.066005	0.013297	0.0022	0.009594	0
Azufre	0.0978432	0.1260591	0.02236	0.085482	0.0128	0.04551	0.001548
Cobre	1.2118288	0.78147573	0.066005	2.402044	0.356	3.023955	0.1286904
Ferro	39.993408	6.65056977	4.515	18.71106	4.4	18.0564	0
Manganeso	2.1349328	0.98725134	1.29	17.51811	4.04	4.598109	0
Selenio	0.318864	0.06148782	4.515	0.110652	4.4	0.01845	0
Zinc	16.397472	6.41105748	1.204	16.08581	4.04	6.5805	0
Fosfolípidos	0	0	0.01075	0	0	0	0.002322
Inositol	0	0	0	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0.00043	0	0	0	0
18:2N6	0.0002912	0.00018138	0.000043	0.000475	0	0	0.0774
18:3N3	0.0001456	0.00018138	0.000043	0	0	0	0.0258
20:5N3	0.0039312	0	0.000043	0	0	0	0.3354
22:6N3	0.0034944	0	0.000043	0	0	0	0.2064
Mezcla VIT	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0	0	0	0	0

HEP120ex, hidrolizado enzimático de pluma a 120 minutos, co-extruido con pasta de soya

ANEXO 6

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE LA DIETA HEP120ex, CON % DE INCLUSION									
INGREDIENTE	Lectina	M.Vit.	ETQ	Colesterol	Inositol	NaH2PO3	Stay C	Metionina	Cl Colina
NUTRIENTE	2.00%	0.22%	0.02%	0.59%	0.03%	0.46%	0.03%	0.30%	0.08%
Humedad	0.06	0	0	0	0	0	0	0	0
Mat.Seca	1.94	0.22	0.02	0.59	0.031	0.458	0.025	0.3	0.076
Proteina cruda	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grasa cruda	1.8	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibra cruda	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceniza	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E.L.N.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Arginina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Histidina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Isoleucina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Leucina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lisina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metionina	0	0	0	0	0	0	0	0.285	0
Cistina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fenilalanina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tirosina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Treonina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Triptofano	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Valina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cl de colina	0.072	0	0	0	0	0	0	0	0.039672
Vitamina C	0	0	0	0	0	0	0.0038	0	0
Calcio	0.0013	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosforo	0.06	0	0	0	0	0.113538	0	0	0
Potasio	0.016	0	0	0	0	0	0	0	0
Cloro	0	0	0	0	0	0	0	0	0.005928
Magnesio	0.0018	0	0	0	0	0	0	0	0
Sodio	0.0006	0	0	0	0	0.14656	0	0	0
Azufre	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cobre	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferro	0.00004	0	0	0	0	0	0	0	0
Manganeso	0.0018	0	0	0	0	0	0	0	0
Selenio	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zinc	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fosfolipidos	1.88	0	0	0	0	0	0	0	0
Inositol	0	0	0	0	0.03068	0	0	0	0
Colesterol	0	0	0	0.566341	0	0	0	0	0
18:2N6	1.158	0	0	0	0	0	0	0	0
18:3N3	0.12	0	0	0	0	0	0	0	0
20:5N3	0.00002	0	0	0	0	0	0	0	0
22:6N3	0.00002	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezcla VIT	0	0.22	0	0	0	0	0	0	0
ETQ	0	0	0.02	0	0	0	0	0	0

ANEXO 7. NIVEL DE SUPLEMENTACION VITAMINICA DE LA MEZCLA INLUIDA EN LAS DIETAS EXPERIMENTALES ^a. (Akiyama, 1991).

VITAMINA	CANTIDAD (mg / kg)
Tiamina	50
Riboflavina	40
Piridoxina	50
Acido Pantoténico	75
Niacina	200
Biotina	1
Inositol	300
Colina	400
Acido fólico	20
Cianocobalamina	0.5
Acido ascórbico ^b	1,000
Vitamina E	300
Vitamina K	5
	(IU / kg)
Vitamina A	10,000
Vitamina D	5,000

➤ **a**, Base húmeda

➤ **b**, Acido ascórbico protegido (derivado de ácido ascórbico estable al calor).

ANEXO 8. ANALISIS DE LOS NUTRIENTES DE LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES

INGREDIENTES	% PROTEINA		% GRASA		% F.CRUDA	
	AS-FED	B. SECA	AS-FED	B. SECA	AS-FED	B. SECA
PLUMA CRUDA	50.87	86.23				
PLUMA MOLIDA	86.73351	90.82076	1.751693	1.83424		
	86.68774	90.77284	2.207402	2.311424		
<i>MEDIA</i>	86.71063	90.7968	1.979547	2.072832		
P. MOLIDA + ENZ.	86.37798					
	86.2599					
<i>MEDIA</i>	86.31894					
P. + PASTA SOYA (30")	55.90142	62.4734	1.5469	1.728759	1.76536	1.972902
P. + PASTA SOYA (30")	54.09544	60.45511	1.3966	1.56079	2.7173	3.036756
<i>MEDIA</i>	54.99843	61.46425	1.47173	1.644775	2.24133	2.504829
P. + PASTA SOYA (60")	55.81864	61.18925	1.2079	1.324119	1.76536	1.972902
P. + PASTA SOYA (60")	55.35936	60.68578	1.42477	1.561855	2.7173	3.036756
<i>MEDIA</i>	55.589	60.93752	1.31634	1.442987	2.24133	2.504829
P. + PASTA SOYA (120")	55.06528	60.42716	1.2048	1.322115	1.76536	1.972902
P. + PASTA SOYA (120")	55.26699	59.55706	1.39369	1.529398	2.7173	3.036756
<i>MEDIA</i>	55.16614	59.99211	1.29925	1.425757	2.24133	2.504829
PASTA SOYA MOLIDA	46.41217	50.10854	0.260923	0.281704		
	46.69777	50.41688	0.270506	0.292049		
	46.36915	50.06209	0.265714	0.286876		2.23
<i>MEDIA</i>	46.49303	50.19584				
HARINA DE TRIGO	14.71995	16.3143	1.882264	2.086136		
	13.69284	15.17594	1.928804	2.137717		
	14.2064	15.74512	1.905534	2.111927		1
<i>MEDIA</i>						
GLUTEN DE TRIGO	81.02279	84.33959	0.17646	0.183684		
	81.64413	84.98637	0.18	0.187369		
	81.33346	84.66298	0.17823	0.185526		0.124912
<i>MEDIA</i>						
H. DE PESCADO PROESA	70.09526	72.30018	4.390308	4.52841		
	70.4335	72.64906	4.519316	4.661475		
	70.26438	72.47462	4.454812	4.594943		1
HARINA DE CAMARON	45.68469	47.44948	2.611562	2.712446		
	48.24073	50.10426	2.599296	2.699706		
	46.96271	48.77687	2.605429	2.706076		8.64
H.PLUMA H.C. (Dartlyng)	77.88839	81.87888	13.28283	13.96336		
	77.70145	81.68236	15.04441	15.81518		
	77.79492	81.78062	14.16362	14.88927		
H.PHC + PSoya ex	52.44313	52.84922	15.95945	16.08303	2.033931	2.049681
	49.80211	50.18775	16.06309	16.18748	1.645813	1.658558
	47.55104	47.91926	16.01127	16.13525	1.839872	1.854119
	49.93209	50.31874				
PLUMA + PSoya EX	38.8358	39.87907	15.07239	15.47729	2.874319	2.951534
	38.92894	39.97471	14.18137	14.56233	2.487365	2.554185
	38.88237	39.92689	14.62688	15.01981	2.680842	2.752859

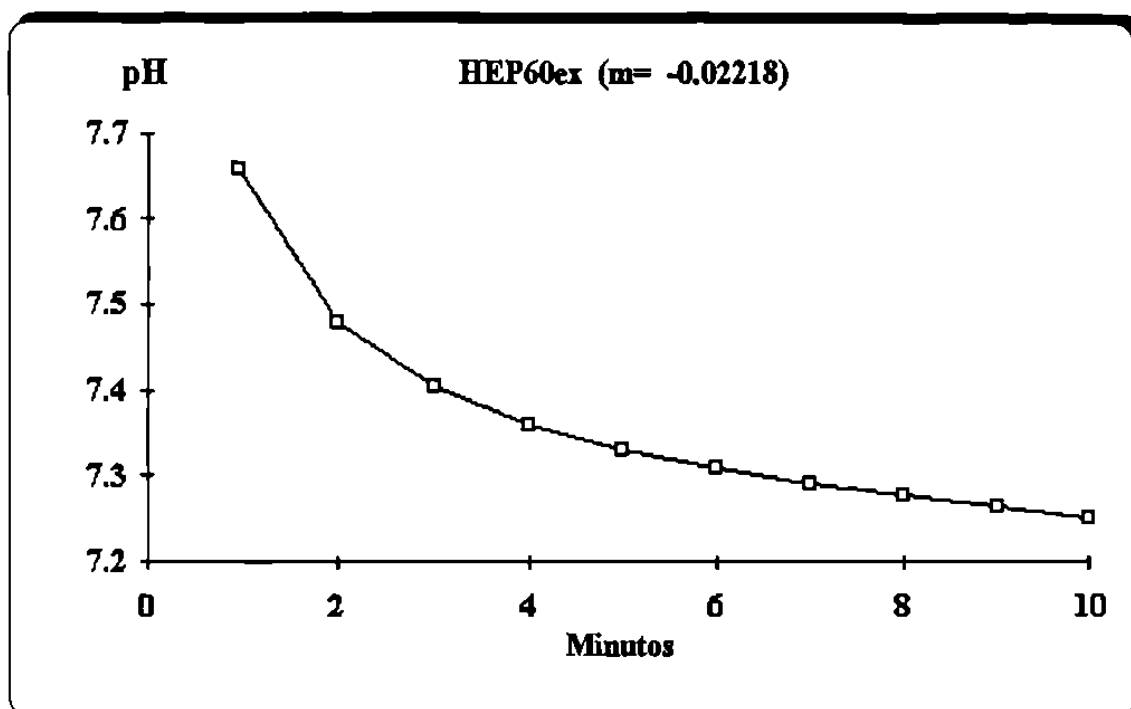
ANEXO 8. CONTINUACION					
INGREDIENTES	% CENIZA		% ELN	% HUMEDAD	BASE SECA
	AS-FED	B. SECA	B. SECA		
PLUMA CRUDA				41.01	58.99
PLUMA MOLIDA				4.7791	95.2209
				4.2216	95.7784
<i>MEDIA</i>				4.50035	95.49965
P. MOLIDA + ENZ.					
<i>MEDIA</i>					
P. + PASTA SOYA (30")	9.8537	11.01214		10.6366	89.3634
P. + PASTA SOYA (30")	9.6982	10.83836		10.4027	89.5973
<i>MEDIA</i>	9.77595	10.92525	12.94124	10.51965	89.48035
P. + PASTA SOYA (60")	9.0104	9.877339		8.5638	91.4362
P. + PASTA SOYA (60")	9.069	9.941577		8.9903	91.0097
<i>MEDIA</i>	9.0865	9.909458	16.42816	8.77705	91.22295
P. + PASTA SOYA (120")	9.4721	10.39443		8.712	91.288
P. + PASTA SOYA (120")	9.6113	10.54718		9.0346	90.9654
<i>MEDIA</i>	9.5417	10.47081	16.73319	8.8733	91.1267
PASTA SOYA MOLIDA	5.910891	6.381648		7.2033	92.7967
	5.878326	6.34649		7.5587	92.4413
	5.894609	6.364069		7.3682	92.6318
<i>MEDIA</i>			37.883	7.3767333	92.62327
HARINA DE TRIGO	1.445748	1.60234		9.7985	90.2015
	1.452906	1.610273		9.6102	90.3898
	1.449327	1.606307	69.76395	9.9094	90.0906
<i>MEDIA</i>				9.7727	90.2273
GLUTEN DE TRIGO	0.744195	0.77466		3.941821	96.05818
	0.721515	0.751052		3.923521	96.07648
	0.732855	0.762856	10.33106	3.932671	96.06733
<i>MEDIA</i>					
H. DE PESCADO PROESA	11.65087	12.01736		3.020335	96.97967
	12.2598	12.73339		3.079005	96.921
	11.95533	12.37537	6.505397	3.04967	96.95033
HARINA DE CAMARON	29.43502	30.57208			
	29.49234	30.63163			
	29.46368	30.60185	4.401553	3.719298	96.2807
				4.695801	95.3042
H.PLUMA H.C. (Darlyng)				5.023657	94.97634
				4.90149	95.09851
				4.8736493	95.12635
H.PHC + PSoya ex	4.366461	4.400273		0.7763975	99.2236
	4.604441	4.640096		0.8374637	99.16254
	4.485451	4.520184	26.4033	0.6913379	99.30866
				0.7683997	99.2316
				2.4945321	97.50547
PLUMA + PSoya EX	4.952045	5.085076		2.7058014	97.2942
	4.8126	4.941884		2.6479378	97.35206
	4.882323	5.01348	34.67087	2.6160905	97.38391

ANEXO 9. VALORES DE LOS PARAMETROS ZOOTECNICOS

PARAMETROS	DIETA CONTROL	HPHE60ex	HEP60ex2	HPHCex	HPHE120ex	PROB.
PESO INICIAL (g)	0.3295 ± 0.0959	0.3312 ± 0.0917	0.3321 ± 0.0884	0.3330 ± 0.0884	0.3285 ± 0.0895	1
PESO 30 DIAS (g)	1.3255 ± 0.3231	1.3359 ± 0.3005	1.4056 ± 0.3379	1.32 ± 0.3695	1.3781 ± 0.4129	0.73
TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA	1.6305 ± 0.1623	1.8501 ± 0.0823	1.6470 ± 0.1831	1.7156 ± 0.1050	1.6874 ± 0.1627	0.26
RAZON DE EFICIENCIA PROTEICA	1.9638 ± 0.2064	1.6648 ± 0.1598	2.0684 ± 0.2289	1.8432 ± 0.1115	1.9261 ± 0.1902	0.07
CONSUMO (g)	1.7716 ± 0.110 a, b	1.8585 ± 0.0739 a	1.7663 ± 0.0377 b	1.8357 ± 0.0446 b	1.7358 ± 0.0874 a, b	0.02
GANANCIA EN PESO %	302.27	303.35	323.24	296.39	319.51	n.d.
TIEMPO DE TRANSITO (min)	54' 35" ± 2'26" a	37' 40" ± 1' 25" b	23' 03" ± 2' 56" c	40' 26" ± 3' 27" b	29' 33" ± 1' 42" d	0.01
SOBREVIVENCIA %	96.25 ± 4.35	88.0 ± 8.76	88.25 ± 6.19	96.5 ± 4.04	89.75 ± 3.78	0.12

➤ **PROB.**, probabilidades estadísticas al 95% de confianza

ANEXO 10a. GRAFICA RESULTANTE DE LA TECNICA pH-SHIFT (Satterlee, 1977; Lazo, 1994)



10b. GRAFICA RESULTANTE DE LA TECNICA pH-SHIFT, MODIFICADA POR EL Dr. R.MENDOZA A. Y EL Ocean. A.DE DIOS U.

