

Digestibilidad Aparente de Aminoácidos de 10 Harinas de Pescado Utilizadas en Alimentos Comerciales Para Camarón Blanco (*L. vannamei*) en México

David Alonso Villarreal-Cavazos¹, Denis Ricque-Marie¹, Mireya Tapia-Salazar¹, Martha Nieto-López¹, Claudio Guajardo-Barbosa¹, Andreas Lemme² y Lucia Elizabeth Cruz-Suárez¹

¹ Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria Apdo. Postal F-56, San Nicolás de los Garza, Nuevo León 66450, México. Tel+fax (+52 81) 83 52 63 80, e-mail dvillarreal@fcb.uanl.mx

² Evonik Degussa GmbH, Rodenbacher Chaussee 4, D_63457 Hanau (Wolfgang), Germany. E-mail: andreas.lemme@evonik.com

Resumen

Se evaluó la digestibilidad aparente de materia seca, energía, proteína y aminoácidos de diez harinas de pescado (HP) utilizadas en alimentos comerciales para camarón en México. Para ello se utilizaron dietas experimentales conteniendo 30% de la harina de pescado a evaluar, y óxido de cromo como marcador indigestible. La colecta de heces se realizó con grupos de 15 juveniles de camarón blanco del pacífico (*Litopenaeus vannamei*), con un peso promedio de $5 \text{ g} \pm 0.1$, confinados en acuarios de 60 L, y con 4 replicados por tratamiento en un diseño de bloques al azar; se inició alimentando con una ración diaria del 10 % de la biomasa de cada acuario, dividida en dos raciones por día, una ofrecida a las 9:00 y la segunda a las 12:30 horas; las heces fueron colectadas 3 veces después de cada alimentación. A las HP, dietas experimentales y heces, se les determinó composición bromatológica y energía bruta en la UANL y aminoácidos en Evonik-Degussa. Los coeficientes de digestibilidad aparente (DA) fluctuaron entre 48.6 y 90.1 % para materia seca, entre 63.4 y 92.8% para energía bruta, entre 69.7 y 91.4% para proteína cruda (DAP), y entre 78 y 97% para la suma de aminoácidos totales (DAAAT). Dos harinas presentaron coeficientes de DAAAT >90%, mientras que la mayoría entre 80 y 87%, y una sola un coeficiente <80%; la DAAAT fue mayor a la DAP para todas las harinas, siendo mayor la diferencia en harinas de baja digestibilidad proteica (secado directo), en las cuales el nitrógeno no proteico fue particularmente indigestible. La digestibilidad de aminoácidos individuales fue en general mayor a la DAP (6% en promedio), con diferencias mayores para histidina y metionina (+10 y +11%), y menores para cistina y glicina (0 y -1%). En conclusión, la digestibilidad de nitrógeno (proteína cruda) subestima la de aminoácidos en harinas de pescado, especialmente en harinas de pescado de baja digestibilidad.

Palabras Clave: *Digestibilidad de aminoácidos, harinas de pescado, Litopenaeus vannamei.*

Introducción

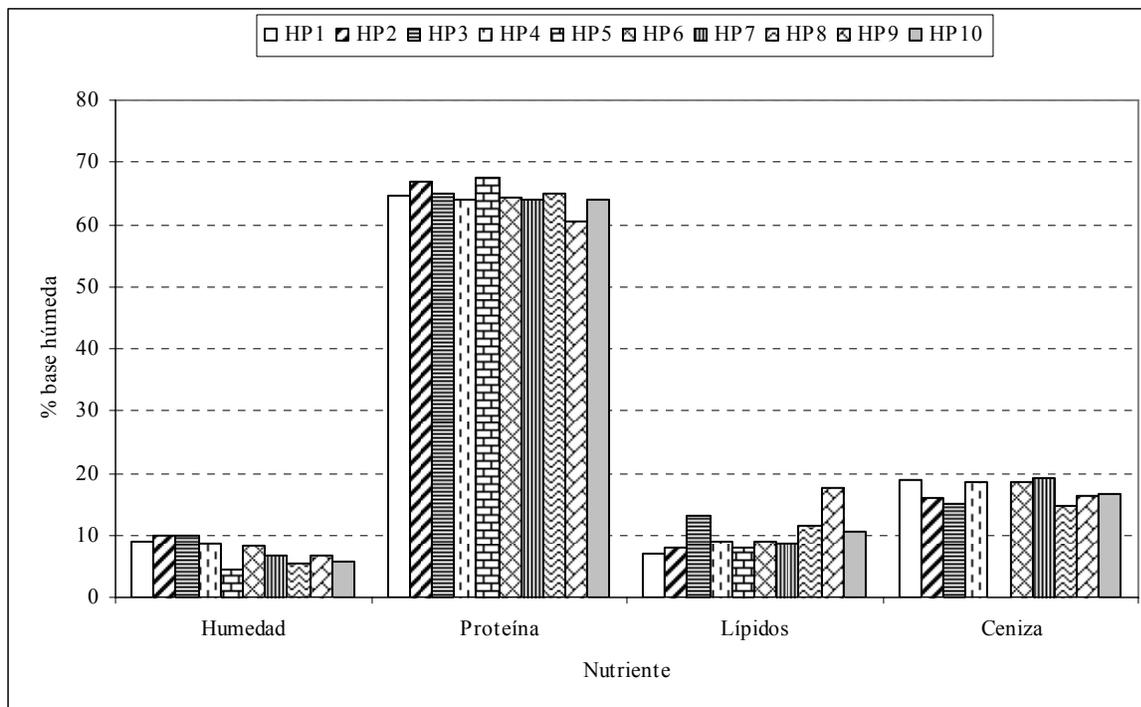
La industria del cultivo de camarón se ha expandido en los últimos años, México registro una producción de 109, 781 ton durante el año 2006 (Industria Acuícola 2007). Esta producción genera una demanda de alimento balanceado de aproximadamente 220,000 toneladas (considerando una tasa de conversión alimenticia de 2:1), que representan entre el 40 y 60% de los costos variables de producción (Anderson *et al.*, 1997; Reyes, 1998; Beiping *et al.*, 2005). La harina de pescado es uno de los ingredientes más utilizados como fuente de proteína, ácidos grasos, fosfolípidos y minerales en acuicultura (Pike, 1994; Pike y Hardy, 1997; Hertrampf y Pascual, 2000; Miles y Chapman, 2006). Los atributos más destacables en una harina de pescado son el alto contenido de aminoácidos, alta digestibilidad y ausencia de factores antinutricionales, que están presentes en fuentes proteicas vegetales. La harina de pescado puede ser elaborada de diferentes especies y con pescados enteros o con subproductos (desechos del fileteo, vísceras, etc.); estos factores afectan el contenido y digestibilidad de los nutrientes (mayor o menor contenido de huesos y aceite) en el producto final (Houser y Akiyama, 1997; Miles y Chapman, 2006). La calidad de la harina de pescado varía debido a la especie de pescado que se utiliza, a la frescura de la materia prima, como a las condiciones de proceso de elaboración afectando la digestibilidad de la proteína, por otro lado, cuando las proteínas son expuestas a temperaturas muy altas, la digestibilidad de la proteína se reduce, esto es debido a las reacciones entre los aminoácidos y otros compuestos, evitando que las moléculas proteicas sean desdobladas por las enzimas digestivas (Romero *et al.*, 1994; Cruz *et al.*, 1998; Opstvedt *et al.*, 2003). La determinación de la digestibilidad es una medida útil para definir el valor nutricional de ingredientes y de alimentos (Akiyama *et al.*, 1989; Lee y Lawrence, 1997; Cruz *et al.*, 2001; Nieto, 2003). En crustáceos existe un sin número de estudios donde se reporta la digestibilidad aparente de proteína (DAP), materia seca (DAMS) y energía (DAE) tanto para dietas como para ingredientes. En 1997, Lee y Lawrence publican una revisión de todos los estudios relacionados con el tema, encontrando que para entonces se habían evaluado 66 ingredientes en diferentes especies de crustáceos, de los cuales 25 en *Litopenaeus vannamei*, pero solo un estudio evaluó harinas de pescado. Los estudios sobre digestibilidad aparente de aminoácidos de ingredientes (DAAAI) en crustáceos son muy escasos, debido al tamaño de la muestra implicado (heces), la complejidad de los análisis y la dificultad de realizar bioensayos de digestibilidad *in vivo* en

condiciones acuáticas. De un total aproximado de 10 estudios publicados sobre DAAA en camarones peneidos, solo 2 han sido realizados en *Litopenaeus vannamei*: uno donde se reporta la DAAA de dietas suplementadas con diferentes subproductos animales terrestres (DAAAD) (Forster *et al.*, 2002) y otro donde se reporta DAAA de ingredientes (DAAAI) (Akiyama *et al.*, 1989). Por otro lado, los artículos publicados sobre DAAA en diferentes grupos de ingredientes (Akiyama, *et al.*, 1989; Shiau *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1997 y Mu *et al.*, 2000) presentan una gran deficiencia en la identificación de los ingredientes evaluados (especie, almacenamiento, proceso) lo cual limita su uso práctico en formulación. Adicionalmente, las metodologías de análisis de AA y las dietas de referencia usadas en esos estudios difieren entre sí, lo cual hace difícil su comparación. La optimización de la calidad del alimento comercial es importante por razones biológicas, ambientales, de salud y económicas. Actualmente los nutricionistas de las compañías de alimentos no cuentan con información sobre la digestibilidad de aminoácidos de las harinas de pescado que les permitan formular de manera más exacta; por lo que se ven en la necesidad de formular con datos obtenidos de tablas de composición de ingredientes que reportan contenidos de AA promedios brutos y que generalmente no están suficientemente descritos en cuanto su origen y procesamiento, lo cual dificulta la extrapolación. En el presente trabajo se determinó la digestibilidad aparente de aminoácidos (DAAA) de diferentes harinas de pescado utilizadas en México para la elaboración de alimentos comerciales para camarón.

Materiales y Métodos

Obtención de los ingredientes

Se evaluaron un total de 10 diferentes harinas de pescado de las siguientes compañías: Conservera San Carlos, MazIndustrial, Omega Protein México, Pacifico Industrial, Productos Marinos de Sonora, Propeguaymas, Prod. Pesq. Matancitas, Proesa, Selecta de Guaymas (ver tabla 8). Las muestras de 8 kg de harinas de pescado provenientes de diferentes proveedores, fueron recibidos de plantas de alimento (Alimentos CostaMar, S.A. de C.V., Promotora Industrial Acuasistemas, S.A. de C.V.) para camarón y proveedores de materias primas de México (Productos Agropecuarios Marinos S.A. de C.V.); la información de los análisis físicos y químicos realizados por el proveedor se muestra en la figura 1.



*Expresado en %, en base húmeda.

**El orden de las harinas no corresponde al orden de aparición de las compañías.

Figura 1.- Composición bromatológica de las harinas de pescado, anunciada por los proveedores

Preparación de dietas experimentales.

Se utilizó una dieta de referencia y 10 dietas experimentales diseñadas según el método indirecto de Cho y Slinger (1979). La dieta de referencia fue constituida principalmente de un alimento tipo comercial que fue formulado especialmente para el experimento y fabricado por la compañía Alimentos Costamar, el alimento fue molido y tamizado a 250 μm , mezclado con un marcador inerte (1% de óxido de cromo, Impex Continental lote 52-0305 ver método de lavado) y un aglutinante (1% de alginato de sodio, Aldrich-180947). Las dietas experimentales quedaron conformadas por 68% de la dieta comercial molida, 1% de óxido de cromo, 1% de alginato y 30% de la harina de pescado a evaluar; estos ingredientes fueron incluidos en una batidora Kitchen Aid de 5 L hasta obtener una mezcla homogénea y por último se le agregó agua tibia. Para obtener los pellets se utilizó un molino de carne Torrey con un cedazo de 1.6 mm de diámetro, alcanzando el alimento una temperatura de 75-80° C al salir del barril del molino,

tardándose en promedio 40 minutos en pasar 1 kg de dieta; los fideos obtenidos se secaron en la estufa a 100° C durante 8 minutos, fueron empacados y refrigerados hasta su uso.

Digestibilidad *in vivo*

Animales experimentales

Se utilizaron juveniles de camarón blanco del pacífico (*L. vannamei*) procedentes de la Compañía Maricultura del Pacífico S.A. de C.V. en Mazatlán, Sinaloa. Cuatrocientos ochenta camarones (5 ± 0.10 gramos de peso promedio) fueron aclimatados en un tanque rectangular de fibra de vidrio de capacidad de 500 L a 32 ppt de salinidad y 30° centígrados. Posteriormente se utilizaron 4 acuarios por dieta distribuyendo 15 camarones por acuario, donde fueron alimentados durante tres días con la dieta experimental correspondiente (período de adaptación).

Acuarios experimentales

44 acuarios experimentales de 60 L fueron utilizados en un sistema de recirculación de agua marina sintética con capacidad de 9 TM; cada acuario cuenta con un sistema de recirculación (“air lift”); dos tanques colectores funcionan a manera de tanques de sedimentación de 1500 L cada uno y se encuentran en la parte inferior del sistema; un tanque de succión se encuentra entre los dos colectores y recibe el agua de ellos; en la parte superior del sistema se encuentran dos tanques reservorios con un sistema de regulación de temperatura por intercambio y que suministran de agua al sistema por medio de gravedad; el sistema cuenta con un filtro (contactor) biológico, filtro de carbón activado, filtros de cartucho de 50 micras, un filtro de perlas BBF2, filtro ultravioleta y un fraccionador de espuma. Los parámetros de calidad de agua durante el presente experimento fueron los siguientes: temperatura de 30.1± 0.6° C, salinidad de 32.6±1.1g/L⁻¹, oxígeno disuelto 5 mg/L⁻¹, pH 7.5±0.3, nitratos 500±0 mg/L⁻¹, nitritos 0.8±0.2 mg/L⁻¹, fosfatos 22±7 mg/L⁻¹.

Alimentación y colección de heces

La estrategia de alimentación y colecta de heces fue la siguiente: se inicio alimentando con el 10 % de la biomasa de cada acuario; esta cantidad se dividió en dos raciones por día (con el 50% de la ración diaria cada una), la primera se ofreció a las 9:00 y la segunda a las 12:30 horas. Las heces fueron colectadas a las 10:30, 11:30, 12:30 horas y a las 14:00, 15:00 y 16:00 horas. La colección se realizó por sifoneo de cada acuario a una cubeta de 2.5 L, posteriormente las heces fueron trasladadas por gravedad a canastillas de unicel (500 mL) donde fueron seleccionadas (utilizando pipetas de succión de 2 mL), eliminando restos de alimento, heces amarillas y cafés, colectando únicamente las heces verdes; permaneciendo en su canastilla de unicel con un poco de agua en refrigeración a 4° C, el mismo procedimiento se repitió para la segunda colecta correspondiente a la misma alimentación (utilizando una canastilla de unicel por cada colecta) y al terminar con la tercer colecta, las heces fueron lavadas (dos veces) con agua destilada y finalmente fueron concentradas en un recipiente plástico con tapa y almacenadas en congelación a -20° C, utilizando un frasco por cada acuario, éste procedimiento se repitió para las colectas de la segunda alimentación; la cantidad mínima de heces frescas necesarias fue de 8 g por replicado, una vez que cada acuario reunía esta cantidad de heces, se procedió con la liofilizaron y se almacenaron en congelación hasta su uso.

Análisis químicos

A todas las harinas de pescado y dietas experimentales se les determinó su humedad (AOAC, 1990, método # 920.36), proteína Dumas (LECO), lípidos Soxhlet (Tecator, 1983), cenizas (AOAC, 1990, método # 942.05) y fibra (AOAC, 1990, método # 962.09). La energía bruta se determinó en ingredientes, alimentos y heces con el método de calorimetría a volumen constante en una bomba calorimétrica modelo Parr 1425 y los aminoácidos por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) por la compañía Alemana Evonik (Llames y Fontaine, 1994; Fontaine, 2003). La digestibilidad de proteína *in vitro* fue determinada en las harinas de pescado con pepsina al 0.0002% según Olsen, (1969, Torry modificado). Lavado del óxido de cromo (Cr₂O₃) método U.A.N.L. (datos no publicados). Para determinar Cr₂O₃ se utilizó el método Bolin et al. (1952), modificándolo de la siguiente manera: para una muestra de 100 mg se utilizó 7ml de

mezcla oxidante (10 g de molibdenato de sodio disuelto en 150 mL de agua destilada, posteriormente se agrega muy lentamente 150 mL de ácido sulfúrico concentrado y 200 mL de ácido perclórico QP), se digiere a 250° C durante 40 minutos agitando los tubos cada 5 minutos; una vez que los tubos están fríos se aforan a 50 mL con agua destilada y se homogeniza; finalmente se toma una alícuota para ser leída en el espectrofotómetro a 438 nm (luz Visible).

Cálculos

Determinación de la digestibilidad del ingrediente

La ecuación de Bureau y Hua considera dos términos y factores 0.7 y 0.3 correspondientes a una mezcla de 70% mezcla de referencia + 30% del ingrediente prueba; así la ecuación empleada es como sigue:

$$ADC_{\text{test ingredient}} = ADC_{\text{test diet}} + [(ADC_{\text{test diet}} - ADC_{\text{ref.diet}}) * (0.6939 * D_{\text{ref.}}) / (0.3 * D_{\text{ingredient}})]$$

La estimación de la digestibilidad de nutrientes en el ingrediente se realizó utilizando una modificación a esta ecuación para considerar las particularidades de la formulación de la dieta experimental (68% ingrediente de referencia + 30% ingrediente prueba + 2% alginato-Cr₂O₃) quedando de la siguiente forma:

$$ADC_{\text{test ingredient}} = ADC_{\text{test diet}} + [(ADC_{\text{test diet}} - ADC_{\text{ref.diet}}) * (0.6939 * D_{\text{ref.}}) / (0.3 * D_{\text{ingredient}})] \\ + [(ADC_{\text{test diet}} - ADC_{\text{alg-cr}}) * (0.0061 * D_{\text{alg-cr}}) / (0.3 * D_{\text{ingredient}})]$$

La modificación considera que la dieta prueba esta constituida de 69.39% de la mezcla de referencia (69.39 = 68/0.98), + 0.61% de un ingrediente ficticio conformado de una mezcla de alginato y Cr₂O₃ en partes iguales, + 30% del ingrediente prueba.

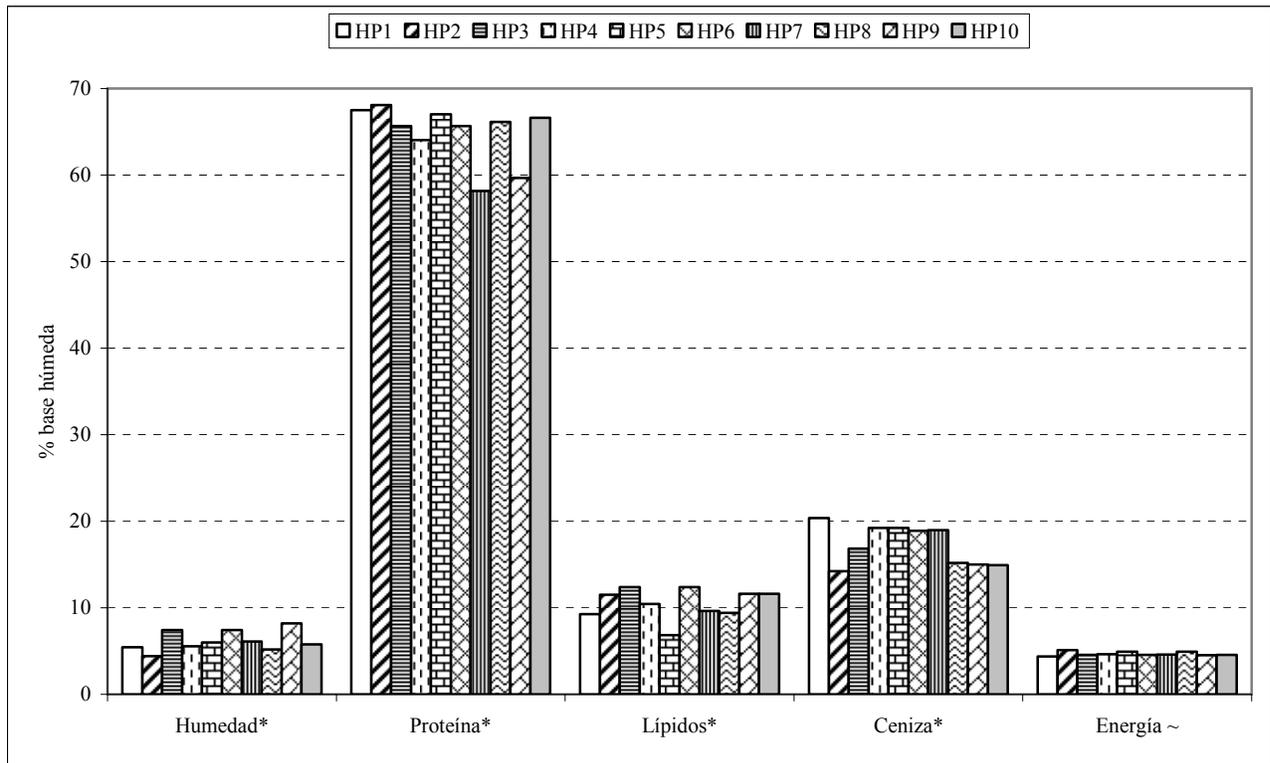
Análisis estadístico

Los valores de digestibilidad fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía para establecer la significancia de las diferencias entre los tratamientos evaluados, y a un análisis múltiple de medias de Duncan para separar las medias de los tratamientos en grupos homogéneos. Los coeficientes de digestibilidad aparente de aminoácidos fueron sometidos a un análisis de varianza factorial (ingrediente por aminoácido), utilizando el paquete computacional SPSS para Windows versión 10. Los valores de digestibilidad aparente de proteína *in vivo* e *in vitro* fueron sometidos a un análisis de correlación.

Resultados

Composición química de las harinas de pescado.

El rango de proteína oscilo entre 59.7 y 67.5%; el contenido de lípidos vario entre 6.8 y 12.4%; la ceniza registro un rango entre 14.2 y 20.4%, la energía entre 4.39 y 5.10 Kcal/g. En la figura 2 se muestra la composición bromatológica y el contenido de energía de las harinas de pescado en base húmeda.



* Expresado en % base húmeda, ~ Expresado en Kcal/g; Proteína = proteína cruda N x 6.25 Dumas.

Figura 2.- Composición bromatológica de las harinas de pescado, analizada.

El contenido de calcio en las harinas de pescado oscilo entre 3.95 y 8.10%, mientras el fósforo presento valores entre 2.44 y 3.91; los contenidos de plomo y mercurio en las harinas de pescado fueron muy bajos, inferiores al límite de detección del equipo analítico, mientras que los niveles de arsénico total oscilaron entre 0.8 y 3.30 mg / kg. En la figura 3 se presentan los valores de calcio, fósforo y arsénico. Plomo y Mercurio estuvieron debajo de los limites de detección (5 y 0.4 mg / kg respectivamente)

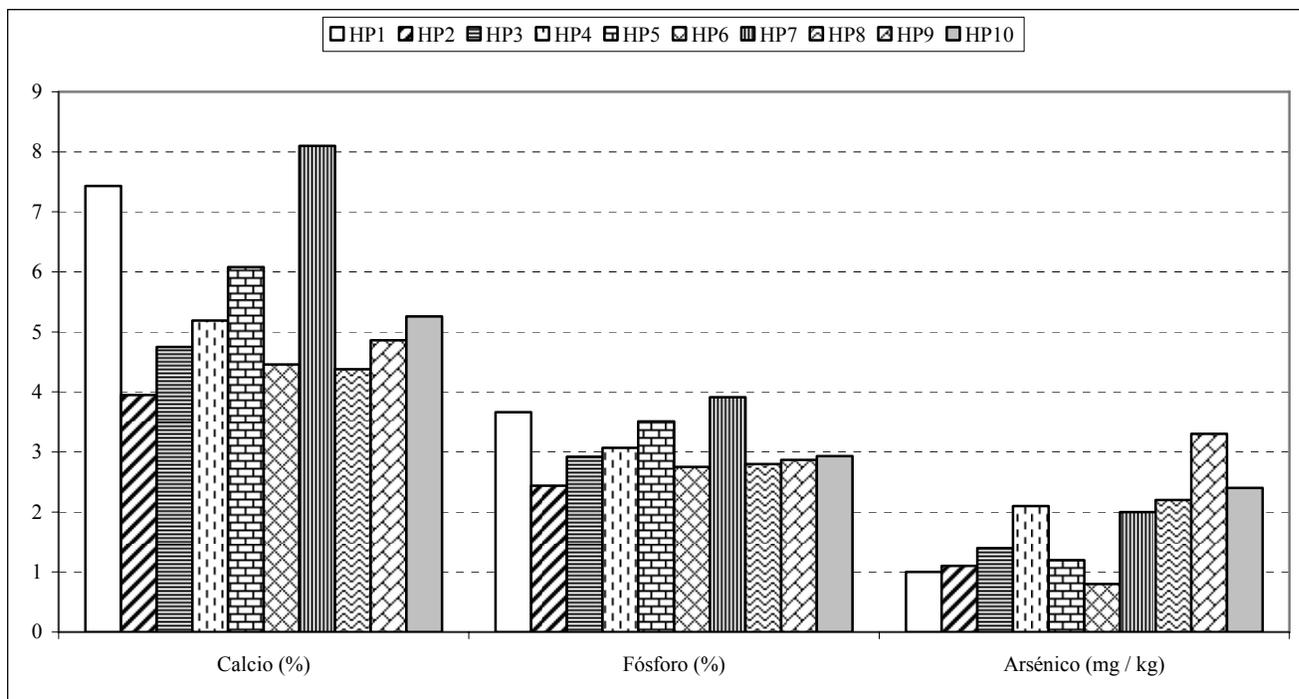


Figura 3.- Contenido de Calcio, Fósforo y Arsénico, en harinas de pescado, determinado por espectroscopia de absorción atómica, en las harinas de pescado, expresado en base seca.

Los valores del índice de frescura o nitrógeno volátil total (TVN) oscilaron entre 15.6 y 77.6 mg de TVN / 100g, los resultados se presentan en la figura 4.

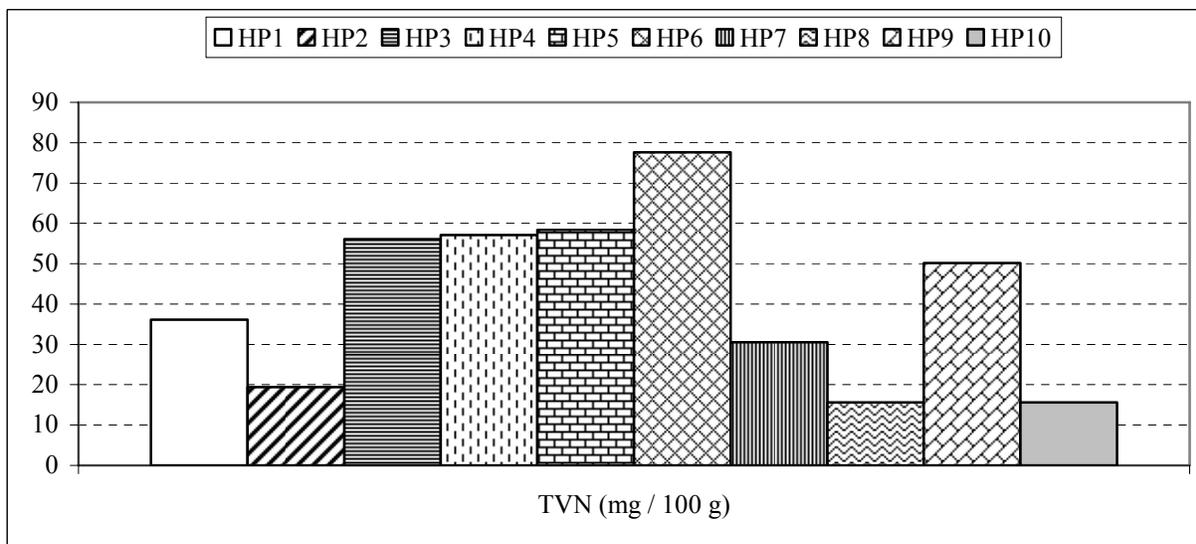


Figura 4.- Valores de nitrógeno volátil total en las harinas de pescado

El contenido de aminoácidos en las harinas de pescado

Los perfiles de aminoácidos de las harinas de pescado fueron muy uniformes, en general las harinas de pescado mostraron diferencias inferiores al 5% entre ellas, sin embargo, aminoácidos como Glicina, Cistina, Prolina e Histidina presentaron diferencias relativas superiores al 10% para algunas harinas de pescado (principalmente en HP1 y HP2). Los resultados de aminoácidos se presentan en las figuras 5a, 5b y 6; comparado con los límites del intervalo de confianza 95%, calculados a partir de la base de datos AminoDat3.0 (Hess *et al.*, 2006).

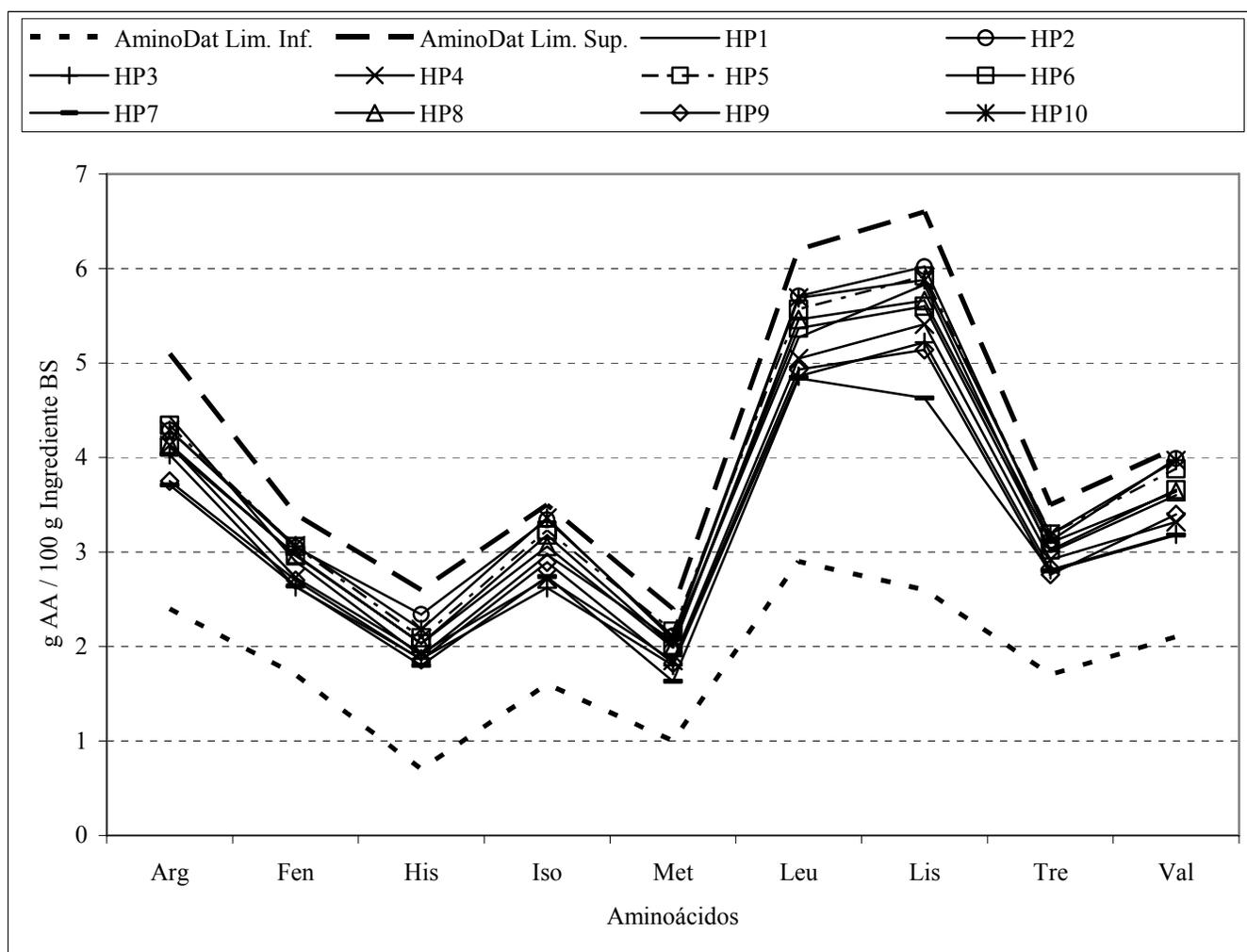


Figura 5a.- Contenido de aminoácidos esenciales en las harinas de pescado expresados en g de AA /100 g del ingrediente en base seca (Limite inferior y superior con una n = 585).

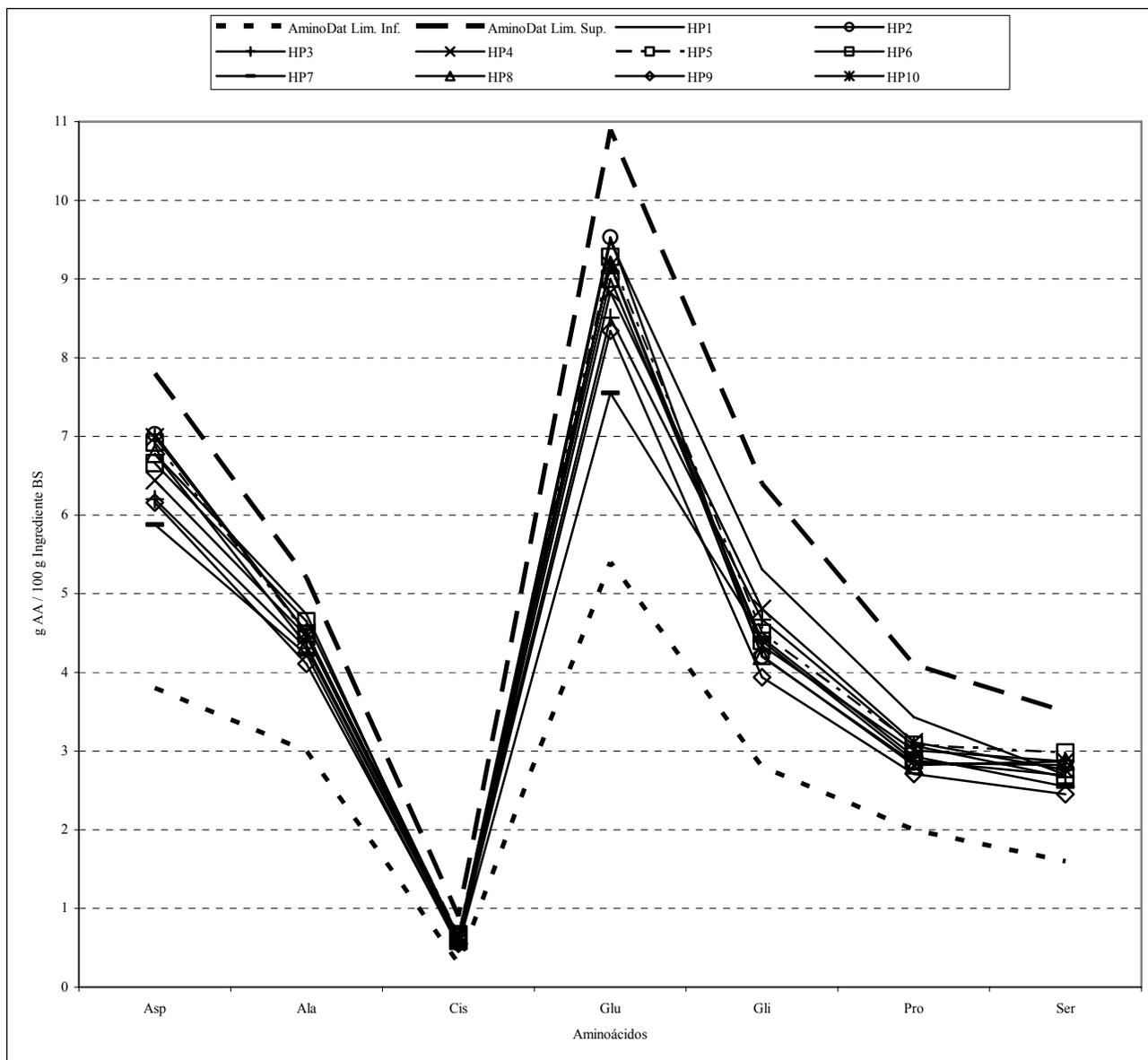


Figura 5b.- Contenido de aminoácidos no esenciales en las harinas de pescado expresados en g de AA /100 g del ingrediente en base seca (Limite inferior y superior con una n = 585).

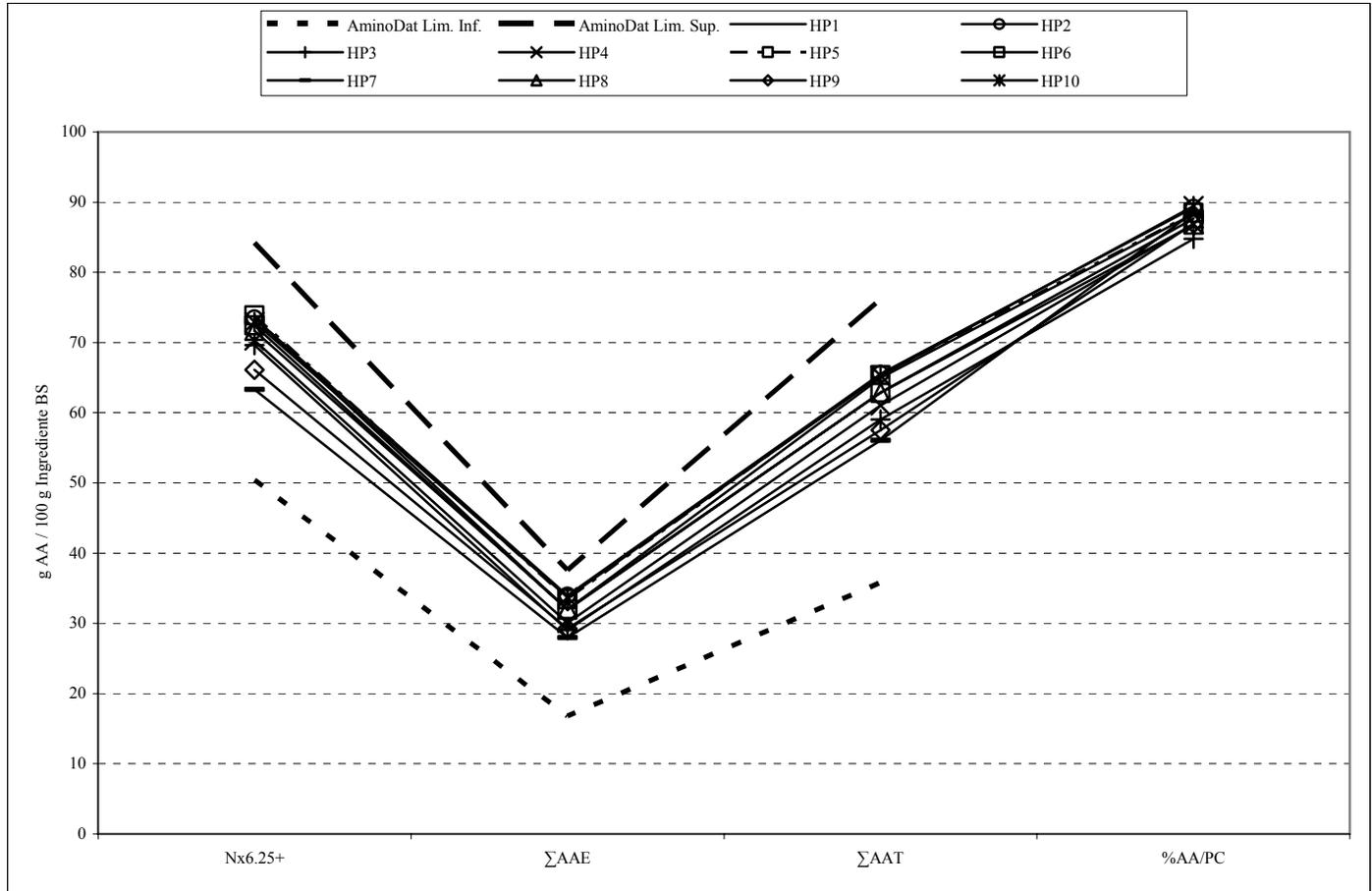


Figura 6.- Contenido de proteína cruda, suma de aminoácidos esenciales, suma de aminoácidos totales y porcentaje de contribución de aminoácidos analizados en la proteína cruda (PC = N x 6.25).

Digestibilidad aparente *in vivo*

El contenido de oxido de cromo, energía, proteína cruda (N x 6.25) y aminoácidos en las heces fue muy reproducible entre los 4 acuarios replicados que recibieron la misma dieta, con coeficientes de variación generalmente por debajo de 6%, el valor más alto fue de 9 %. Los coeficientes de digestibilidad de materia seca (DAMS), energía (DAE) y proteína cruda (DAP) en la dieta de referencia fueron de 78.1 %, 86.8 % y 82.1 % respectivamente; los coeficientes de DAMS en las harinas de pescado fluctuaron entre 50 y 90%, la DAE en las harinas de pescado oscilo entre 63.4 y 92.8%. Los resultados de digestibilidad (DAMS, DAP y DAE) se presentan el la figura 7.

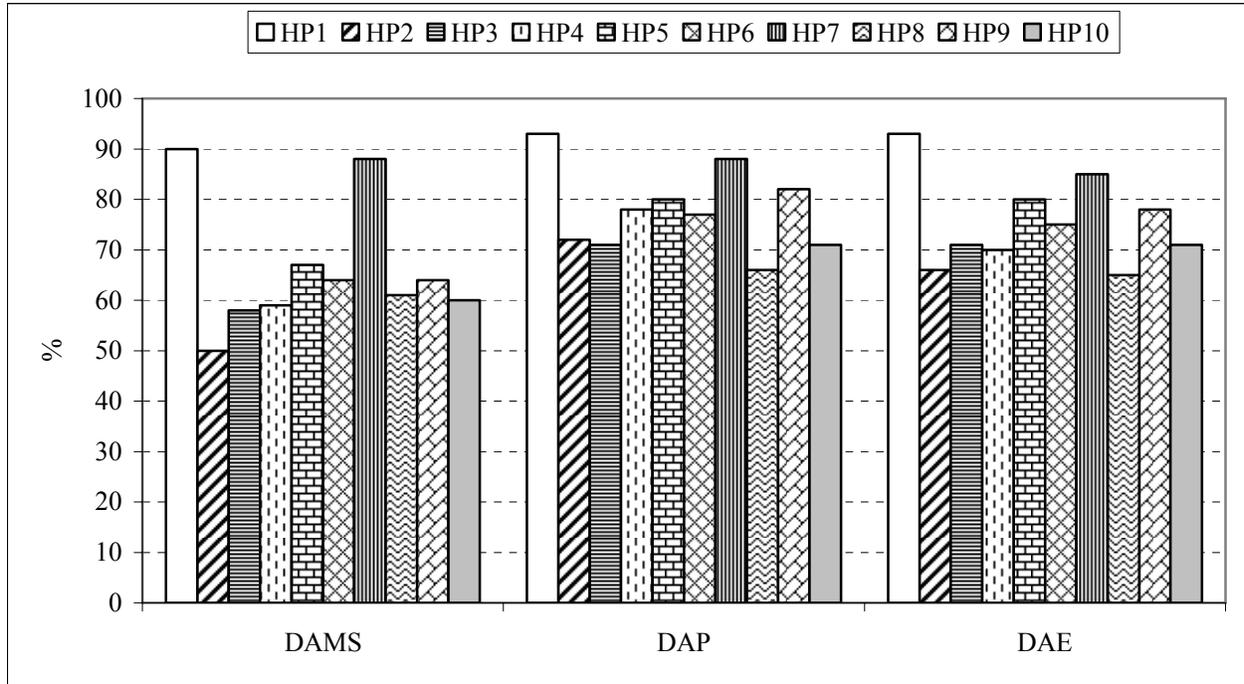


Figura 7.- Coeficientes de DAMS, DAP y DAE en harinas de pescado.

Digestibilidad de proteína *in vitro* (Torry pepsina al 0.0002%)

Los resultados de digestibilidad de proteína *in vitro* variaron, siendo el resultado más bajo el de la harina de atún aleta amarilla (HP7) con 56.63 %, mientras el más alto fue el de la harina de sardina entera secada a vapor (HP3) registrando 86.12%. Los resultados de digestibilidad *in vitro* en las harinas de pescado se presentan en la figura 7.

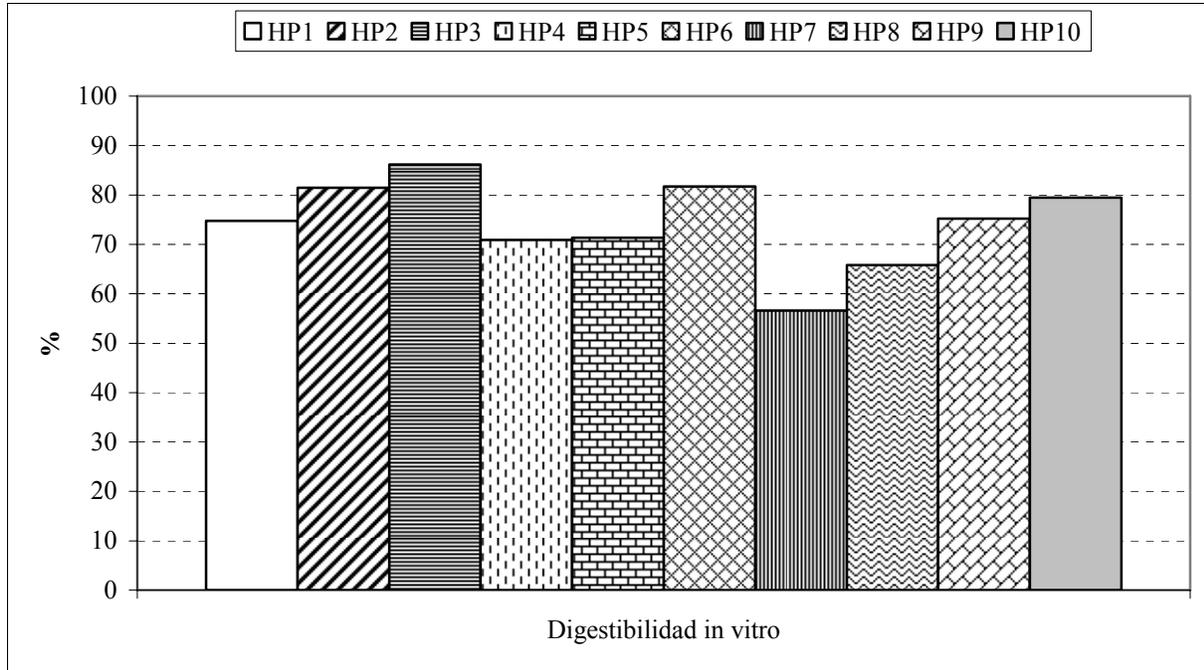


Figura 7.- Digestibilidad aparente de proteína *in vitro* (pepsina al 0.0002%) en las harinas de pescado.

Coefficientes de Digestibilidad Aparente de AA

La digestibilidad aparente de Metionina y Treonina fueron mayores en las HP que en la dieta de referencia con diferencia de 13 y 7 % respectivamente. El rango de los coeficientes de digestibilidad aparente de la suma de AA totales (DAAAT) en las harinas de pescado osciló entre 78 y 97%. Solamente dos harinas de pescado (harina de sardina entera secada a vapor HP1 y la harina de atún aleta amarilla secada a vapor HP7) presentaron coeficientes de DAAAT muy altos (>90%), mientras la mayoría de las harinas de pescado (7 harinas) presentaron coeficientes de DAAAT altos (entre 80 y 87%); el coeficiente de DAAT más bajo (cerca de ser considerado como bueno) fue reportado por la harina de sardina entera secada a vapor (HP3) con 78%. Los AA más digestibles en las harinas de pescado fueron Arginina, Metionina, Lisina e Histidina (87%), mientras que los menos digestibles fueron Glicina (77%) y Cistina (78%). Los coeficientes de digestibilidad de aminoácidos se presentan en la figura 8.

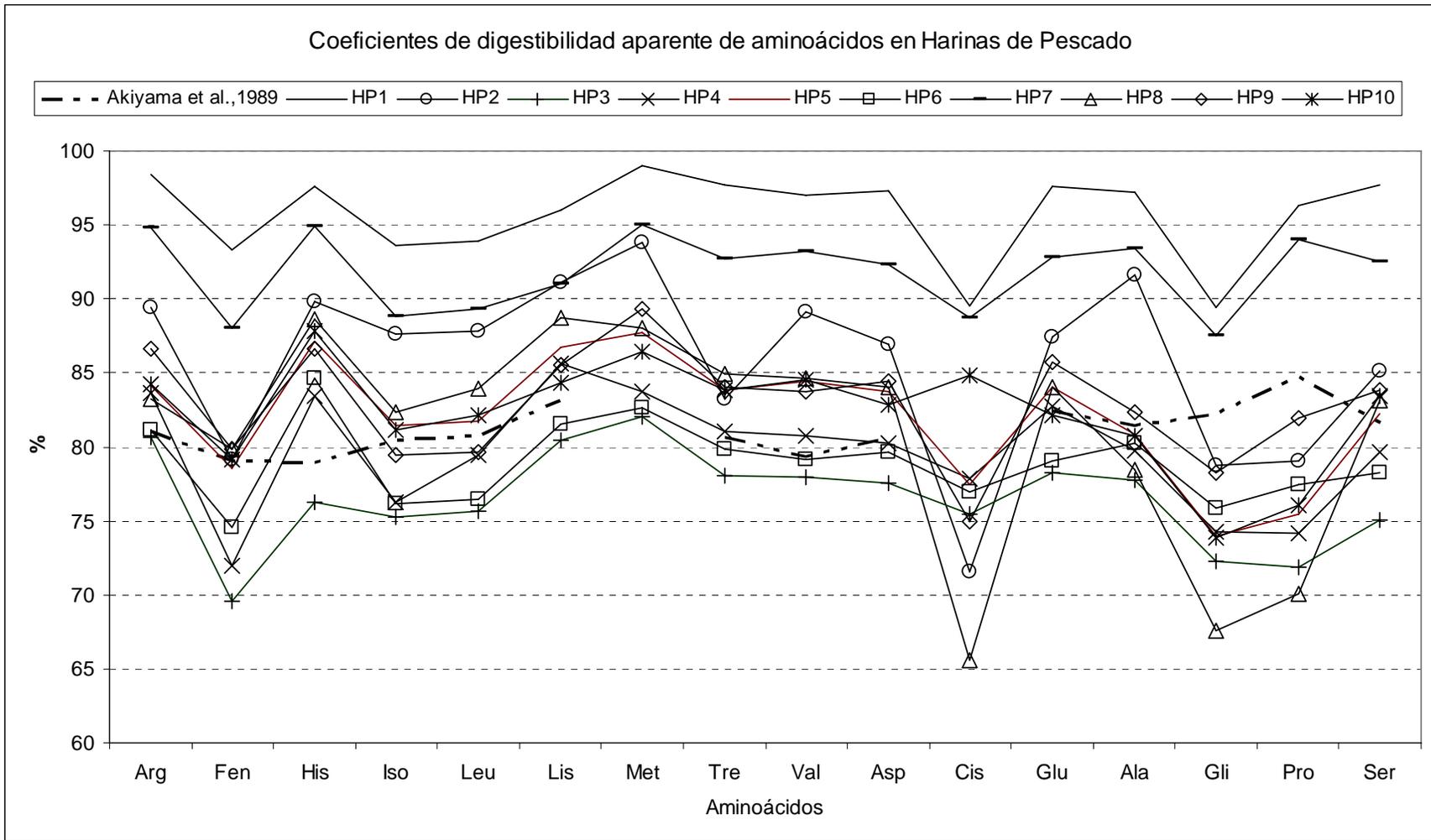


Figura 8.- Coeficientes de DAAA (%) de harinas de pescado disponibles en México.

Discusión

Composición química de las harinas de pescado

El contenido de proteína cruda (N x 6.25) de las harinas de pescado son acordes con los estudios anteriormente mencionados y adicionalmente con la base de datos AminDat3.0 (Hess *et al.*, 2006). Adicionalmente en la tabla 1 se citan los resultados de algunos autores que reportan rangos de proteína cruda, grasa cruda, cenizas, densidad energética, contenido de calcio y fósforo en harinas de pescado. La composición química de las harinas de pescado evaluadas en el presente estudio son acordes con la información citada.

Tabla 1.- Antecedentes sobre el contenido de nutrientes en harinas de pescado.

	N	PC (%)	GC (%)	C (%)	Energía (Kcal/g)	Ca (%)	P (%)
Anderson <i>et al.</i> , (1993)	10	59 – 84	9 - 15	11 - 22	4.83 - 5.47	2 - 7	1.8 – 3.7
Anderson <i>et al.</i> , (1997)	16	66 – 72	7 -15	11- 23	4.46 – 5.59	2 -7	1.8 – 4.1
Aksnes y Mundheim (1997)	6	76 – 82	8 - 12	11 - 17	-----		
Bortone <i>et al.</i> , (2004)	S	62	8 - 11	17 - 19	4.52 – 4.62		
	M	63	11	18	4.49		
Hertrampf y Pascual (2000)	M	66	11	21	-----	2 - 8	1.9 – 4.8
	S	65	5	20	-----		
	A	64	10	24	-----		

n = número de muestras, S = sardina, M = menhaden, A = atún, PC = proteína cruda, GC = grasa cruda, C = cenizas, Ca = calcio y P = fósforo.

Sloth *et al.* (2005) analizaron 10 harinas de pescado y reportan como niveles promedio de arsénico de 7.7 mg/kg, dichas harinas rebasan los niveles de arsénico permisibles por la Comunidad Europea (6 mg/kg); en el presente estudio el rango encontrado en las harinas de pescado fue de 0.8 a 3.3 mg/kg. El nitrógeno volátil total es la cuantificación de bases nitrogenadas producto de la degradación del pescado, por lo tanto, es considerado una

herramienta importante para determinar la frescura de la materia prima (pescado fresco); Pike y Hardy (1997) reportan para materia prima el valor recomendable de TVN entre 50 y 90 mg / 100g; Ricque *et al.* (1998) reportan el valor recomendado de TVN para materias primas inferior a 100 mg / 100g; todas las harinas de pescado en el presente estudio registraron valores de TVN inferiores a el limite propuesto por Pike y Hardy (1997). No obstante, que las harinas de pescado son el producto terminado y no una materia prima, se realizó la determinación en ellas, encontrando que las harinas de pescado (HP8 y HP10) con la DAP más bajas (66 y 71%) presentaron también los valores de TVN más bajos (15.6 mg / 100g); esto se explica de la siguiente manera: el TVN al ser un compuesto volátil se pierde durante el proceso de producción de la harina de pescado especialmente durante el secado, coincidiendo que estas 2 harinas fueron secadas de manera directa. No se encontró una correlación ($r^2 = 0.12$) entre TVN de las harinas de pescado y DAP.

Contenido de aminoácidos en las harinas de pescado

El contenido de aminoácidos en las harinas de pescado fue acorde con lo reportado por la base de datos AminoDat3.0 (Hess *et al.*, 2006) para harinas de pescado (n = 585); los resultados se presentan en la tabla 5. Hertrampf y Pascual en el 2000 reportan el perfil de aminoácidos esenciales (expresados en g AA / 16 g) de una harina de menhaden y una harina de atún; el perfil de aminoácidos esenciales encontrado en el presente estudio para la harina de menhaden fue muy parecido (diferencias inferiores al 5%), solo que esta ultima presento 11% más Histidina y 8% menos Arginina. Mientras que para la harina de atún las diferencias entre los aminoácidos esenciales fue inferior al 5%, pero la harina utilizada en el presente estudio presento 15% menos Histidina y 11% menos Arginina. Anderson *et al.* (1993) reportan el contenido de aminoácidos de una harina de menhaden con un contenido superior de proteína (67.7 vs 65.7 % PC), el cual es consistentemente mayor al contenido de aminoácidos de la harina de menhaden utilizada en el presente estudio, con excepción de histidina y metionina que fueron inferiores. Anderson *et al.*, 1997 reportan el contenido de aminoácidos de una harina de menhaden, el cual concuerda con la harina de menhaden empleada en el presente estudio. El efecto del proceso sobre la DAP fue muy evidente en el presente estudio para las harinas que fueron secadas de forma directa

Digestibilidad aparente *in vivo*

En términos generales los resultados de DAMS fueron bajos ya que siete harinas registraron valores entre 50 y 58%. Las harinas de sardina registraron un rango entre 50 y 90%, mientras la harina de menhaden fue de 64% y la harina de atún 88%. Siccardi *et al.* (2006a) reportan coeficientes de DAMS entre 55.6 y 68.1 % siendo muy similares a lo encontrado en el presente estudio. Bortone *et al.* (2003) reportan un rango entre 61 a 73% para el coeficiente de DAMS para tres harinas de sardina; estos resultados son similares a los encontrados en el presente estudio, salvo por la harina de sardina HP1 que presentó 90% de DAMS. La DAP en las harinas de sardina mostró un rango entre 67 y 93%, mientras la harina de menhaden fue de 76% y la harina de atún 88%. Aksnes y Mundheim (1997) condujeron un estudio para evaluar el efecto de la frescura y el proceso de elaboración de la harina de pescado sobre la digestibilidad de nutrientes en peces; reportan que tanto la frescura de la materia prima como las condiciones de proceso afectan la calidad de la harina de pescado y su digestibilidad; altas temperaturas (100° C) reducen 4% la DAP. En el presente estudio la harina procesada a mayor temperatura (90-110° C) registro una DAP alta (88%), este resultado puede ser explicado con el corto tiempo de secado al que fue sometida dicha harina que fue de 10 a 15 minutos (ver tabla 2). Las harinas de pescado que presentaron la DAP más baja fueron las que utilizaron el secado directo (HP8 y HP10); otro indicador interesante fue la medición de TVN; sabemos que es un parámetro que es de utilidad para evaluar la frescura de la materia prima y que no es valido determinarlo a partir del producto terminado, dado que las condiciones del proceso volatilizan a este tipo de compuestos; en el presente estudio se determinó el TVN en las harinas de pescado, encontrando justamente que las harinas de secado directo registraron los valores de TVN más bajos ver tabla 2. Nieto (2003) reporta un rango de DAP en 17 harinas de pescado entre 75.8 y 98.7 %; concluye que la DAP se reduce conforme la temperatura en el proceso de elaboración se incrementa, lo anterior pone en evidencia que la HP2 (DAP 72%) que nos reportaron como elaborada a partir de materia prima fresca y sometida a un proceso bueno, realmente pudo haber sido sometida a un proceso diferente al que se nos reporto y su TVN fue bajo (tabla 2). Siccardi *et al.* (2006b) reportan un rango más estrecho en la DAP entre 83 y 89% al encontrado en el presente estudio; mientras en otro estudio, Bortone *et al.* (2003) reportan el coeficientes de DAP de 86.3%; esta información es acorde al rango encontrado en el presente estudio. La DAE en las harinas de sardina registró un rango entre

65 y 93%, mientras la harina de menhaden fue de 77% y la harina de atún 88%. Los resultados de DAE son acordes con la información reportada por Bortone *et al.* (2003) en donde encontraron un rango de 67 a 95% DAE para tres harinas de pescado. No obstante, los valores DAE encontrados por Siccardi *et al.* (2006b) oscilan entre 81 y 90%, siendo superiores a los valores encontrados en el presente estudio. Finalmente, Burson *et al.* (1997) reportan coeficientes de digestibilidad aparente *in vivo*; en la harina de Menhaden evaluada en *Penaeus setiferus*, los resultados fueron los siguientes: DAMS = 59%, DAP = 76% y DAE = 75%. Los resultados son muy similares a lo encontrado en *L. vannamei* con excepción de DAMS donde el coeficiente fue ligeramente superior al reportado en el presente estudio con 64%.

Digestibilidad de proteína *in vitro* (Torry pepsina al 0.0002%)

Nieto (2003) reporta un rango para digestibilidad *in vitro* entre 43 y 99% en 17 harinas de pescado de diferentes especies. El promedio de digestibilidad *in vitro* encontrado en el presente estudio (74%) concuerda exactamente con el reportado por Nieto *et al.* (2003), a pesar de que las harinas de pescado eran de especies de pescado diferentes. La harina de Menhaden en el presente estudio registro una digestibilidad de la proteína *in vitro* de 81.7% siendo superior a la reportada por Nieto *et al.* (2003) (76.5%) para una harina de Menhaden. Siccardi *et al.* (2006b) reportan la DAP *in vitro* en una harina de menhaden de 93.6%, siendo superior a lo encontrado en el presente estudio. La correlación entre la DAP *in vitro* vs *in vivo* fue baja ($r^2 = 0.13$), esto concuerda con Galleguillos (1994) quien concluye que es difícil obtener una buena correlación. Siccardi *et al.* (2006a) encuentran una correlación positiva ($r^2 = 0.55$) mayor a la encontrada en el presente estudio. Adicionalmente la técnica de Torry modificado (pepsina al 0.0002%) tiende a subestimar la DAP en muestras con alto contenido de cenizas (Ezquerria *et al.*, 1997; Siccardi *et al.*, 2006a).

Tabla 2.- Efecto del proceso sobre la DAP.

	Materia prima	Tipo secado	Tiempo espera antes del procesamiento	Temperatura y tiempo	DAP	TVN*
HP1	Sardina entera	Vapor	NR	NR	93 ± 1 ^a	36.14 ± 3.82 ^b
HP2	Sardina entera	Vapor	< 16 horas	90°C/ 30min.	72 ± 1 ^{de}	19.40 ± 2.80 ^a
HP3	Sardina entera	Vapor	NR	NR	71 ± 1 ^{cd}	56.10 ± 1.06 ^c
HP4	Sardina entera	Vapor	< 24 horas	90°C/15 min.	78 ± 2 ^{bc}	57.08 ± 1.13 ^c
HP5	Sardina entera	Vapor	< 6 horas	80°C/30-40 min	80 ± 2 ^b	58.35 ± 0.53 ^c
HP6	Menhaden	Vapor	NR	NR	77 ± 3 ^b	77.61 ± 4.69 ^d
HP7	Atún Aleta Amarilla	Vapor	< 2 meses	90-110°C/10-15 min.	88 ± 1 ^a	30.51 ± 1.76 ^b
HP8	Sardina y recorte de atún	Directo	NR	NR	66 ± 3 ^e	15.61 ± 0.58 ^a
HP9	Sardina y vísceras	Vapor	NR	NR	82 ± 2 ^b	50.20 ± 10.99 ^c
HP10	Sardina, vísceras y recorte de atún	Directo	NR	NR	71 ± 2 ^{cd}	15.61 ± 1.81 ^a

a,b,c,d, son diferentes con una P < 0.05, * Expresado en mg TVN/ 100g.

Coefficientes de Digestibilidad Aparente de AA

La digestibilidad aparente de aminoácidos totales (DAAAT) de 4 harinas de pescado (85 a 97%) fue superior a la DAAAT de la dieta de referencia (DR), mientras que 3 HP presentaron una DAAAT igual a la DR (83%) y otras dos harinas fueron inferiores (78 a 81%) a la DR. En seguida se presenta la comparación entre el presente estudio (rango) y los datos reportados por Akiyama *et al.* (1989) para harina de pescado: Histidina oscilo entre 76 y 98% vs 79%; Arginina entre 81 - 98% vs 81%; Treonina entre 80 y 97% vs 81%; Valina entre 78 y 97% vs 79%; Fenilalanina entre 70 y 94% vs 79%; Isoleucina entre 74 y 95% vs 79%; Leucina entre 76 y 94% vs 81%; Lisina entre 81 y 96% vs 83%; Ácido Aspártico entre 77 y 97% vs 82%; Ácido Glutámico entre 78 y 97 vs 80%; Serina entre 75 y 98% vs 82%; Prolina entre 70 y 96% vs 84%; Glicina entre 67 y 90% vs 82% y Alanina entre 78 y 97% vs 81%. Para los diferentes AA podemos decir que los CDA reportados por Akiyama *et al.* (1989) caben dentro del rango reportado en el presente estudio, sin embargo, se encuentran generalmente cerca del límite inferior del rango encontrado.

El coeficiente de digestibilidad aparente de la suma de los aminoácidos de la harina de Menhaden reportado por Anderson *et al.* (1993) para salmón del Atlántico es de 84.9%; en el presente estudio la DAAAT en camarón blanco del pacífico demostró ser similar 81% (HP6) a lo registrado para salmón.

Por otro lado, al comparar las diferencias entre la digestibilidad aparente de cada aminoácido individual y la DAP de cada harina de pescado, encontramos que Cistina (rango entre -7 a 14%) fue el único aminoácido que presentó una diferencia promedio nula comparado con la DAP; la DA de Glicina (rango entre -6 a 7%) promedio fue inferior a la DAP; mientras que en el resto de los aminoácidos las DAAA fueron entre 2 y 11% mayores a la digestibilidad aparente de proteína (ver figura 9). Siete harinas de pescado presentaron diferencias promedio de DAAA inferior al 6%; las harinas que presentaron las diferencias mayores fueron HP10 (11%), HP2 (14%) y HP8 (15%), las cuales se encuentran dentro de las harinas de menor DAP (< 72%), dos de ellas con proceso de secado directo (HP8 y HP10). Considerando que el contenido de nitrógeno no proteico fue relativamente constante entre las diferentes HP (diferencia proteína cruda menos

DAAAT = 12%), parecería entonces que la digestibilidad de éste tiende a ser menor en las harinas de baja digestibilidad proteica, mientras la digestibilidad de AA se mantiene a niveles mayores.

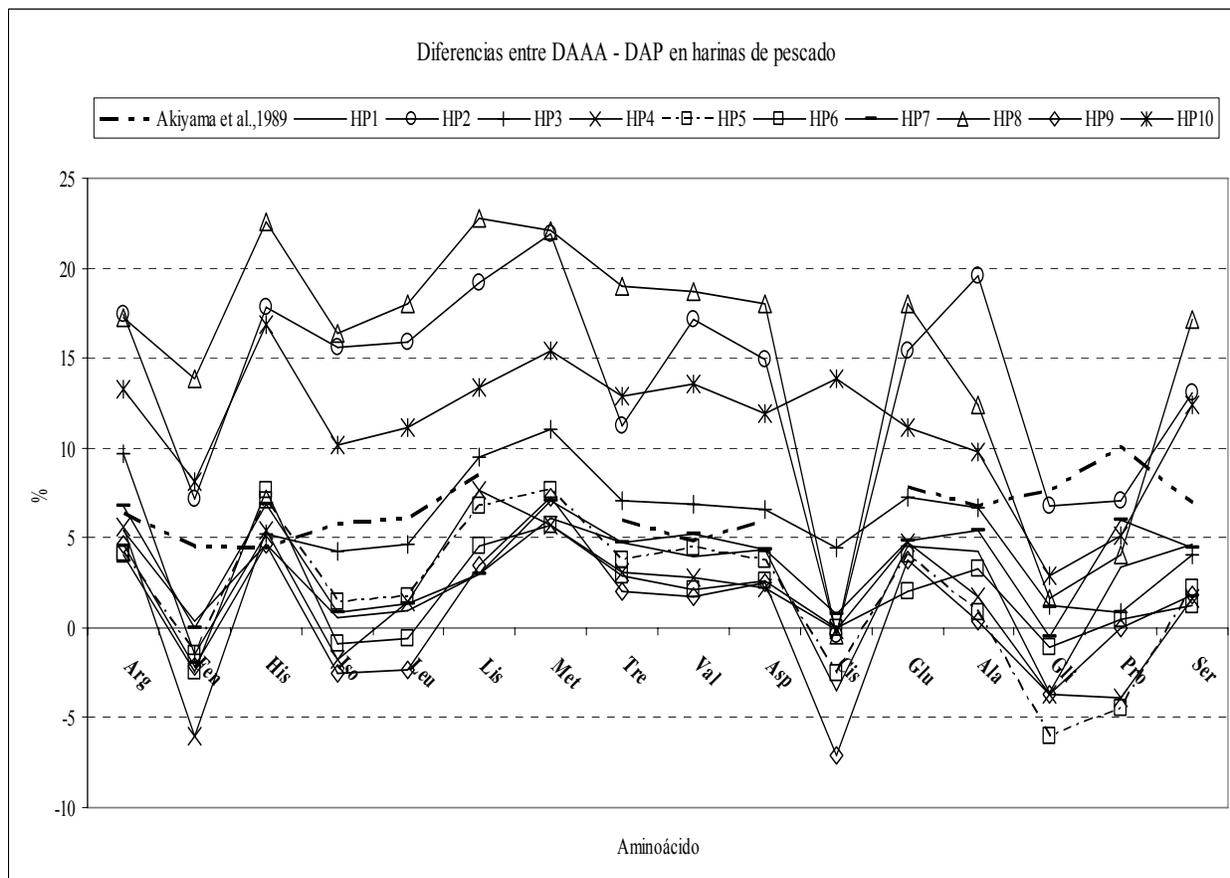


Figura 9.- Diferencias entre la digestibilidad aparente de aminoácidos (DAAA) y la digestibilidad aparente de proteína (DAP).

El aporte de aminoácidos esenciales fue variado (21.2 a 28.5 g AA / 100 g de Ingrediente en base seca) las mejores harinas en este rubro fueron la HP1 (28.53) y HP2 (28.49) mientras que los aportes más bajos los registraron 5 harinas fueron de 21.23 a 23.86 g de AAE / 100 g de harina en base seca. El contenido de aminoácidos digestibles totales fue mayor en la HP1 (57.79 g / 100 g Ingrediente en base seca), mientras que la harina más baja fue la HP3 (42.25 g / 100 g Ingrediente en base seca).

Conclusiones

Aunque el perfil de composición de aminoácidos es muy similar entre harinas de pescado los contenidos totales de aminoácidos fueron muy variados y digestibilidad de aminoácidos individuales también fue muy variable para *Litopenaus vannamei*. Los coeficientes de DAAAT alcanzaron niveles tan altos como 97% (mejor) y 94% (segunda mejor), mientras el coeficiente de DAAAT más bajo fue 78%. Las harinas con el mejor aporte de aminoácidos digestibles totales alcanzando 57-58%, mientras que los contenidos de aminoácidos digestibles más bajos fueron de 45% (HP3) a 49% (HP4 y HP9). El promedio de los coeficientes de digestibilidad aparente de los AAE fue mayor al de los AANE (85 vs 80% respectivamente). Los AA más digestibles en las harinas de pescado fueron Arginina, Metionina, Lisina e Histidina (87%), mientras que los menos digestibles fueron Glicina (77%) y Cistina (78%). La digestibilidad aparente de proteína (DAP) no puede ser considerado como un indicador confiable de la digestibilidad de aminoácidos individuales en harinas de pescado por las siguientes razones: el contenido de proteína cruda en las harinas no es equivalente al contenido de aminoácidos ya que existe nitrógeno no proteico, adicionalmente este nitrógeno no proteico es menos digestible (ya que se éste se concentra en las heces), que los aminoácidos, por lo anterior es importante realizar estudios de digestibilidad aparente de aminoácidos (DAAA) en las harinas de pescado. Tres harinas de pescado (de las cuales dos fueron secadas de forma directa) presentaron diferencias superiores al 10%, entre DAP y DAAAT promedio, las ocho restantes mostraron diferencias inferiores al 6%. La HP1 presento el mejor aporte de AAE y totales digestibles. Las HP8 y HP10 que fueron secadas de forma directa presentaron los coeficientes de digestibilidad aparente de proteína más bajos (66 y 71% respectivamente); el TVN en estas harinas fue el más bajo (15.6 mg TVN/ 100g), asociado también con el proceso de secado directo. Finalmente se presento una correlación baja ($r^2 = 0.13$) entre la DAP y la digestibilidad *in vitro*.

Agradecimientos

Especialmente a México que a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por apoyar el proyecto: Determinación de la digestibilidad de los alimentos comerciales y de ingredientes utilizados en la formulación de alimentos balanceados para *Litopenaeus vannamei*, SAGARPA-CONACYT-2003-C02-149. Para las compañías Mexicanas: Alimentos CostaMar, S.A. de C.V.; Promotora Industrial Acuasisistemas, S.A. de C.V.; Productos Agropecuarios Marinos S.A. de C.V.; Maricultura del Pacifico, S.A. de C.V. y a la compañía Alemana Evonik-Degussa por brindarnos el apoyo necesario para la realización de las diferentes fases experimentales del proyecto.

Bibliografía Citada

- A.O.A.C. Official methods analysis. 12^a Ed. Horritz E. (editor). Association of Official Analytical Chemist. U.S.A. 1990.1094 pp.
- Akiyama, D.M., Coelho, S.R., Lawrence, A.L., Robinson, E.H., 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 91-98.
- Aksnes, A. y Mundheim, A.1997. The impact of raw material freshness and processing temperature for fish meal on growth, feed efficiency and chemical composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 149: 87-106.
- Andreson, S.J. Santosh, P.L. Anderson, D.M. y Jayanta, C. 1993. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. *Aquaculture*, 108:111-124.
- Anderson, S.J., Higgs, D.A., Beames, R.M. y Rowshandeli, M. 1997. Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in sea water. *Aquaculture Nutrition*. 3: 25-38.
- Beiping, T., Kangsen, M., Shixuan, Z. Qicum, Z. Lihe, L. y Yu, Y. 2005. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*, 36:438-444.
- Bolin, D.W., King, R.P., Klosterman, E.W., 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide Cr₂O₃.when used as an index substance. *Science* 116, 634-635.
- Bortone, E.J., Cruz, E., Nieto, M., Tapia, M., Ricque, D., Guajardo, C. 2003. Mexico research studies digestibility in Fishmeals. *Global Aquaculture Advocate*. Vol. 6 Issue 5. P:38-41.
- Bortone, E.J., Cruz, E., Nieto, M., Tapia, M., Ricque, D., Guajardo, C. 2004. Mexico research studies digestibility in Fishmeals. *Panorama acuícola*. Vol. 9 Número 5, pp 10-13.

- Brunson, R.P., Romaine, R.P., Reigh, R.C., 1997. Apparent digestibility of selected ingredients in diets for white shrimp *Penaeus setiferus* L. *Aquaculture Nutrition* 3, 9-16.
- Bureau D.P. y Hua K. 2006. Letter to the editor of *Aquaculture*. *Aquaculture* 252, 103-105.
- Cho, C.Y. and Slinger, S. 1979. Apparent Digestibility Measurement in Feedstuffs for Rainbow Trout. *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*, Vol. II. P:239-247.
- Cruz. S. L.E., D.Ricque-Marie, M. Nieto-López, M. Tapia-Salazar. 1998. Revisión sobre harinas de pescado y aceites de pescado para la nutrición del camarón, pp 298-326. En: Civera-Cercedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E.(Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Cruz. S. L.E., D.Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar. McCallum, I.M. y Hickling, D. 2001. Assesment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meals (*Brassica sp*) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). *Aquaculture* 196 (1-2), 87-104.
- Dumas. Método elemental. TruSpec® CHN. LECO™ Corporation 2003.
- Ezquerria, J.M., Garcia-Carreno, F.L., Carrillo, O., 1998. *In vitro* digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 163, 123-136.
- Fontaine, J. 2003. Amino acid analysis of feed En: *Amino acids in animal nutrition* (D'Mello). Second edition. CABI publishing. pp. 22-31.
- Forster, I.P., Dominy, W., Obaldo, L. y Tacon, A.G.J. 2002. Renderded meta and bone meals as ingrediet of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. Volume 62. pp 1-16.
- Galleguillos, A. M. 1994. Control y certificación de la calidad en harina de pescado. *Avances en Nutrición Acuícola II. Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 7-10 Noviembre de 1994. pp 367-372.
- Hertrampf, J.W. y Pascual, F.P. 2000. *Hoandbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Hess, V., Fickler, J., Fontaine, J y Heimbeck, W. 2006. AminoDat®3.0- Amino acid composition of feedstuffs. Evonik-Degussa GmbH, Health y Nutrition, Hanau, Germany.
- Houser, R.H. y Akiyama, D.M. 1997. Feed Formulation Principles. In: D'Abramo, L/R/, Conklin, D.E., Akiyama, D.E. (Eds.), *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 493-587.
- Industria Acuícola. 2007. Producción de camarón blanco de cultivo en México durante el año 2006. Volumen 3 Número 2 Enero 2007.
- Lee, P.G. y Lawrence, A.L. 1997. Digestibility. En: *Crustacean Nutrition*. Volume 6. World Aquaculture Society. pp.194-260.
- Llames, C., Fontaine, J. 1994. Determination of amino acids in feeds: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 77: 1362-1402. Longenecker, J.B., Wilbur, H.M., Herbert, P.S. 1964. Improvement in the protein efficiency of soybean concentrates and isolates by heat treatment. *Agr. Food Chem.*, 12: 411.
- Miles, R.D. and Chapman, F.A. 2006. The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. This document is FA122, one of a series of the Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service,

Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. First published: May 2006. Please visit the EDIS Web Site.

- Mu, Y.Y., Lam, T.J., Guo, J.Y. y Shim, K.F. 2000. Protein digestibility and amino acid availability of several protein sources for juvenile Chinese hairy crab *Eriocheir sinensis* H. Milne-Edwards (Decapoda, Grapsidae). *Aquaculture Research*. Volume: 31. pp. 757-765.
- Nieto L. M. 2003. Desarrollo de una técnica de digestibilidad *in vitro* para el control de harinas de pescado y alimentos para camarón. Tesis Doctoral de la Facultad de Ciencias biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- Olsen (1969) "Pepsin Digestibility Test (Torry Modificado). 1992." Memorias seminario internacional sobre Calidad de harinas de pescado en nutrición animal acuícola y pecuaria. Vol II, Compilado de técnicas de análisis. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad autónoma de Nuevo León. 16-17 Noviembre.
- Opstvedt, J., Nygard, E., Samuelsen, T.A., Venturini, G. Luzzana, U. y Munheim, H. 2003. Effect on protein digestibility of different processing conditions in the production of fish meal and fish feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 775-782.
- Parr, 1992a. 1425 Semimicro bomb Calorimeter. Operating Instruction Manual No 280 MM. Parr Instruments Company, Moline, Illinois, USA
- Pike I.H. 1994. Productos marinos para acuicultura: el futuro. In: R. Mendoza, L.E. Cruz Suárez y D. Ricque Marie. Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Edits.,7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey. FCB/UANL, pp 191-204.
- Pike I. H. y Hardy R.W. 1997. Standards for assessing quality of feed ingredients. In: D'Abramo, L/R/, Conklin, D.E., Akiyama, D.E. (Eds.), *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 447-492.
- Reyes, Q.T. 1998. Estructura de costos en la camaronicultura y apoyos financieros a través de empresas parafinancieras. Memorias del II Simposium Internacional de Acuicultura 98. pp. 45-64. Mazatlán, Sinaloa, México.
- Ricque, M.D., Abdo-de la Parra, A.I., Cruz. S.L.E., Cuzon, G., Cousin, M. Aquacop, Pike, I.H. 1998. Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture* 165: 95-109.
- Romero, J.J., Castro, E., Díaz, A.M., Reveco, M., Zaldivar, J. 1994. Evaluation of methods of certify the "Premium" quality of Chilean fish meals. *Aquaculture*, 124,351-358.
- Sandbol, P. 1993. Nueva tecnología en la producción de harina de pescado para piensos: implicaciones sobre la evaluación de la calidad. IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España.
- Shiau, Shi Yen, Kou Ping Lin y Chu Lein, Chiou. 1992. Digestibility of different protein sources by *Penaeus monodon* raised in brackish water and sea water. *Journal of Applied aquaculture*. Volume 1(3) pp. 47-53.
- Siccardi III, A.J., Lawrence, A.L., Gatlin III, D. M. 2006a. Apparent dry matter and energy digestibility of ingredients for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* diets. Meeting World Aquaculture Society America 2006. Las Vegas, Nevada, February 13 - 16, 2006. Abstract 124.

- Siccardi III, A. J., Lawrence, A.L., Gatlin III, D.M., Fox, J., Castille, F.L., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M.L. 2006b. Digestibilidad aparente de energía, proteína y materia seca de ingredientes utilizados en alimentos balanceados para el camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*. Avances en Nutrición Acuícola VIII. Memorias del VIII Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 15 al 17 de Noviembre de 2006. 1ra. Edición. ISBN: 970-694-331-5. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. Editores Cruz -Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Nieto-López M. G., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos D.A., Puello-Cruz, A. C., García-Ortega, A. Mazatlán Sinaloa México. 213-237.
- Sloth, J.J., K. Julshamn y A.K. Lundebye. 2005. Total arsenic and inorganic arsenic content in Norwegian fish feed products. *Aquaculture Nutrition* 11; 61-66.
- SPSS for windows version 10.
- Tecator, 1983. Fat Extraction on Feeds with the Soxtec System HT—The Influence of Sample Preparation and Extraction Media. Application note AN 67/83 (1983.06.13). Soxtec System HT Manual Tecator, AB Sweden.
- Williams, K.C., Allan, G.L., Smith, D.M., Barlow, C.G., 1997. Fishmeal Replacement in Aquaculture Diets using Rendered Protein Meals, In: Proc. Int. Symp. on Anim. Nut., Fats y Environment, Australian Renderers Assoc, Sydney Australia.