

Contenido

FACTORES DE CALIDAD EN HARINA DE PESCADO Y EN LOS LIPIDOS DE ALIMENTOS PARA PECES	455
EFFECTOS NUTRICIONALES DE LA OXIDACION DE LIPIDOS EN ALIMENTOS PARA PECES	481
EFFECTO DE ACEITES OXIDADOS Y DEFICIENCIA EN VITAMINA “E” Y/O ANTIOXIDANTE ARTIFICIAL EN DIETAS PARA CAMARON	507
FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS ACUICOLAS	523

FACTORES DE CALIDAD EN HARINA DE PESCADO Y EN LOS LÍPIDOS DE ALIMENTOS PARA PECES

R.G. Ackman.

**Canadian Institute of Fisheries Technology
Technical University of Nova Scotia
P.O. Box 1000
Halifax, Nova Scotia. B3J 2X4
Tel: 902 420 7758
Fax: 902 420 0219**

**Traducción: Laura Treviño Carillo, Ma. Isabel Abdo de la Parra y L. Elizabeth Cruz
Suárez, Denis Ricque**

RESUMEN

Los lípidos son esenciales para todas las formas de vida y son suministrados a los peces cultivados principalmente como fuente de energía, y para incrementar el peso del producto. Se requieren ácidos grasos n-3 de cadenas largas para el apropiado funcionamiento de las membranas musculares, así como de otros órganos vitales de los salmónidos. Paradójicamente, estos son los ácidos grasos más susceptibles a oxidarse en las materias primas utilizadas y en el producto final. La “calidad” de los aceites de pescado para uso industrial se mide tradicionalmente con el porcentaje de ácidos grasos libres, pero en alimentos para salmón este índice realmente no es aplicable porque los ácidos son altamente digeribles. En su lugar, debe ponerse atención al índice de peróxido y valor de anisidina de todos los ingredientes utilizados para elaborar alimento para peces. Sin embargo, éstos indicadores son más aplicables al aceite que a la harina de pescado. Al alimentar con aceite de canola y pescado intencionalmente oxidados y también con ensilados de pescado se observó que puede haber alguna reducción en el crecimiento, pero poca o nula influencia en el sabor del producto final, siempre y cuando se haya suplementado suficiente vitamina E. En futuras investigaciones se necesita comparar la vitamina E natural, una mezcla de tocoferoles, con antioxidantes químicos sintéticos. Para comercializar un producto de calidad se debe prestar más atención a la pérdida de tocoferoles, especialmente, después de su procesamiento.

Palabras clave: Harina de pescado, aceite de pescado, ácidos grasos omega-3, salmón del Atlántico, lípidos, oxidación, tocoferol.

1. INTRODUCCION

El objetivo de la acuicultura de peces en este momento se enfoca en producir productos de calidad a un precio competitivo. En el mejor de los casos, se deben de elaborar alimentos apropiados y altamente estandarizados a partir de ingredientes estables y de buena reputación. Desafortunadamente, el mundo real no es así de generoso y es necesario considerar que la calidad de las dietas para salmón ha sido de gran preocupación desde hace varias décadas y es necesario preguntarse si esto ha cambiado recientemente.

El alimento estándar en el comienzo del cultivo de salmón en Canadá, contenía harina de pescado secado al vapor, usualmente elaborada a partir de arenque (Lall, 1987). El secado a flama directa se volvió popular, pero reducía el contenido de lisina, y con el desarrollo de la harina noruega LT-94 la industria tuvo que reconsiderar el proceso de secado para beneficiarse de este proceso (Figura 1). Estudios recientes sobre el perfil de aminoácidos en harinas preparadas con diferentes peces, sugieren que la especie es una variable tan importante como el proceso (Anderson et al., 1985). El secado al vacío es posiblemente más moderado pero se trata de una tecnología aún muy nueva. Durante un tiempo, la industria en la costa Atlántica utilizó alimentos húmedos que podían ser producidos de acuerdo a como los iban necesitando y elaborados en pequeñas cantidades a partir de los desperdicios de pescado o de especies sin valor comercial. La vida de anaquel era usualmente de 24 horas o menos. Aunque el desempeño era excelente en circunstancias ideales el alimento húmedo no era tan fácil de manejar como los pelets secos, y se desmoronaba en aguas agitadas. Más tarde, esto se volvió un problema ambiental, así como económico, ya que la acumulación en el fondo podría volverse un problema cuando se desmoronaba mucho alimento y se hundía sin haber sido consumido. El uso de pescado crudo o semicocido (“pasteurizado”) como ingrediente, posiblemente acarrearía enfermedades y la industria fue gradualmente cambiando a pelets secos con un contenido de grasa mucho más elevado que lo sugerido en la Tabla 1. En realidad, el alimento llamado “alto en energía” puede ser también llamado alimento “alto en grasa”. Actualmente éstos alcanzan niveles de aproximadamente 30% de grasa.

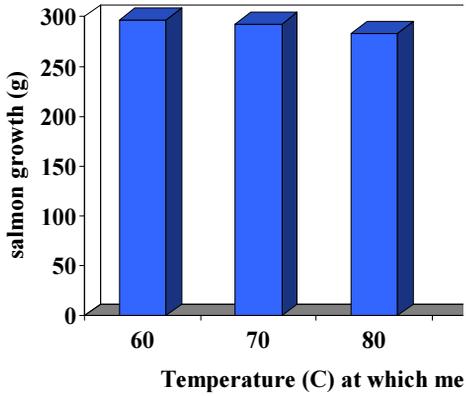


Figura 1. Crecimiento del salmón del Atlántico asociado con harinas de pescado secadas a diferentes temperaturas. Cortesía de IFOMA (International Fish Oil and Meal Association)

Tabla 1. Calidad recomendada de harina de pescado Noruega y Canadiense ^a

Componente	Noruega	Canadiense	
	Norse-LT94	Arenque	Pescado blanco
Proteína , min (%)	70	68	60
Grasa (extraída por Soxhlet), max (%)	11.5	—	—
Grasa (cruda), min (%)	—	5	3
Cenizas Totales max (%)	14	16	20
Humedad, max. (%)	10	10	10
Humedad, min. (5)	5	5	5
Amonio-N (TVN) c, % max.	0.16	0.2	0.2
Digestibilidad con pepsina d, min (%)	94%	—	—
Proteína digestible , min (%)	—	90	90
Salmonella	ND	ND	ND
Dimethyl nitrosamina	ND e	—	—
Antioxidante adicionado (ethoxyquin, ppm)	400 f	200	200

^aStandard de calidad canadiense voluntario.

Procesado al vapor , preferentemente fino hasta 0.25 mm

^cNitrógeno volátil total

^ddeterminado por la prueba de pepsina diluida (Método de Torry)

^eND = No detectado

^f200 ppm adicionados antes y 200 mg después del secado.

Adaptado de Anderson y Lall, 1994.

Un hecho desafortunado de la industria del cultivo de salmón en la costa Atlántica canadiense es el reducido consumo de alimento durante varios meses del año (Figura 2). Las plantas de alimentos para peces deben tener capacidad para cubrir el pico de demanda, pero por casi 6 meses al año deben operar a capacidad reducida.

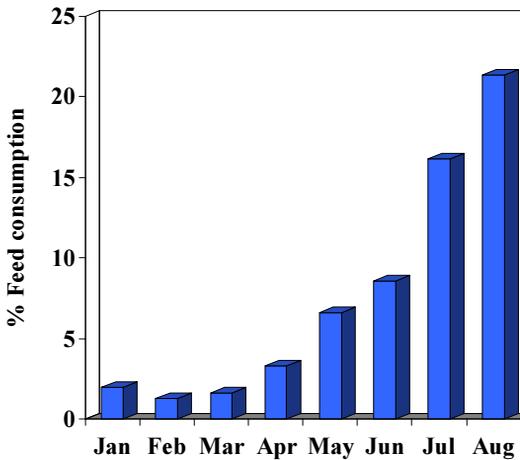


Figura 2. Alimento para salmón del Atlántico consumido por mes, a lo largo de un año en la Bahía de Fundy, Canada. (Cortesía de S.P. Lall.)

3. PORQUE INVESTIGAR LAS GRASAS?

Se tiene que empezar a discutir sobre lípidos y ácidos grasos en alguna parte y el punto inicial puede ser el descubrimiento asociado al trabajo de tesis de J.D. Castell, uno de mis antiguos estudiantes. En este estudio se evidenció que los salmónidos parecían tener un requerimiento por ácido alfa-linolenico (18:3n-3) para mantener un buen estado de salud y crecimiento (Castell et al., 1972). En ese tiempo los ácidos grasos en la nutrición humana estaban también en un estado de auge ya que se decía que el alto consumo de ácidos grasos polinsaturados reducía el colesterol en la sangre. El más común era el ácido linoleico (18:2n-6), reconocido como “esencial” en ratas. Este era el ácido graso polinsaturado más disponible en aceites vegetales y por lo tanto accesible para aumentar su consumo; los ácidos grasos n-3 eran efectivamente, ignorados. La Tabla 2 subraya las estructuras básicas de estas dos familias de ácidos grasos. Finalmente, R. T. Holman mostró que el ácido linoleico n-3 dietético también era esencial para la salud del sistema neural en humanos (Holman et al., 1982). Coincidentemente, otras investigaciones (Bang et al., 1980; Dyerberg and Jorgensen, 1982) mostraron en relación con la “dieta esquimal” que los ácidos grasos omega-3 de cadena larga de la Tabla 2, podrían ayudar a reducir en los humanos la incidencia de enfermedades coronarias (Schmidt y Dyerberg, 1994). En

estudios a gran escala, el consumir pescado (Kromhout et al., 1985) y particularmente consumir pescado graso (Burr, 1991), especialmente salmón (Nelson et al., 1991) fue mucho más aceptable que el ingerir grasa de foca como en la dieta Esquimal! Los ácidos grasos omega-3 de la grasa de pescado ahora disfrutan de una favorable reputación entre los dietistas, nutricionistas y escritores (Nettleton, 1991; 1995), un factor favorable para el mercadeo.

Tabla 2. Estructuras de ácidos grasos esenciales importantes en aceites de pescado, alimentos para peces y músculo de pescado

Abreviación	Estructura	Nombre común
18:2n-6	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Acido linoléico
20:4n-6	$\text{CH}_3-\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Acido araquidónico
18:3n-3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Acido α -linoléico
20:5n-3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Acido icosapentaenoico (EPA)
22:6n-3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{COOH}$	Acido docosaheptaenoico (DHA)

Desafortunadamente, el formidable poder terapéutico de los ácidos grasos omega-3 de cadena larga de los peces nunca ha sido plenamente apreciado por las agencias reguladoras de Norte América, pero en el Reino Unido de hecho es una recomendación de salud oficial (U.K. Department of Health, 1994) que la gente coma pescado al menos dos veces a la semana y de estas dos veces se sugiere comer pescado graso al menos una vez a la semana. Las recomendaciones relevantes son:

R.2.3. Recomendamos que el consumo promedio de la población en ácidos grasos de cadena larga n-3 pase de 0.1g/día a 0.2g/día (1.5g/semana) (S.2.3.2.).

R.3.1. Recomendamos que la gente consuma al menos dos porciones de pescado semanalmente, una de las cuales debe ser pescado graso. (S.3.7.3).

¿Qué pasa con el pescado? El consumo de lípidos de calidad es literalmente vital en los primeros estadios de la vida del pez. La composición de lípidos y vitaminas liposolubles de los huevos de los peces es importante, pero es un área difícil de investigar, por eso la atención se ha enfocado en las larvas de peces (Kanazawa, 1995). Los estudios sobre alimentación de larvas en los cuales, rotíferos y Artemias han sido enriquecidos con los EPA y DHA de la Tabla 2 son ahora demasiado numerosos para enlistarlos. En la siguiente etapa en el pez juvenil, los detalles de los ácidos grasos corporales pueden revelar las diferencias entre las grasas de las dietas suministradas arbitrariamente en los laboratorios de producción de crías y aquellas que están disponibles en el hábitat natural del salmón (Ackman y Takeuchi, 1986). En el caso del salmón criado en laboratorio no hay evidencia de que los ácidos grasos normalmente presentes en el cuerpo del adulto sean óptimos para que el juvenil resista el estrés de smoltificación (Hamre y Lie, 1995; Roy et al., 1995). A pesar de lo anterior, la acuicultura de peces produce un producto de calidad. También es un producto frágil que enfrenta una competencia intensa para los dólares del consumidor. Haciendo a un lado el tema de la proteína, me gustaría citar un párrafo de una

revisión reciente: “Los alimentos altos en energía son pelets extruidos a los cuales se han añadido cantidades extra de aceite de pescado” (Hardy, 1995). Considerando que el precio del aceite de pescado ha aumentado, ¿es realmente necesario suministrar solamente aceite de pescado? Puede el aceite de pescado extra tener de una calidad diferente y menor? Puede ser que el aceite utilizado no sea de pescado? ¿Podrían los cambios en la calidad de las grasas utilizadas afectar la respuesta del consumidor a este producto? Para revisar estos puntos es necesario observar la calidad de los lípidos en el pez, en la harina de pescado y en cualquier aceite que se incluya en el alimento.

LIPIDOS EN EL PEZ, HARINA DE PESCADO Y ENSILADO DE PESCADO

Todos los peces tienen al menos 0.6% de lo que llamamos fosfolípidos (abreviado como PL en la Figura 3). En peces estos son esenciales para el funcionamiento de los músculos. La carne negra (o roja) tiene 1-1.5% de PL. El resto de la grasa en el músculo de los peces son triglicéridos (TG). Usualmente, éstos se intercambian con el agua en un total de 80%, así, cuando algún pez (arenque, macarela) comienza a engrasarse, los TG se elevan hasta el 20% y el agua se reduce a 60%. En casos extremos muchos de los triglicéridos están en la capa de grasa visible debajo de la piel, en las aletas ventrales o en los depósitos de grasa del intestino. El hígado del bacalao y de peces similares puede almacenar casi la totalidad de los triglicéridos contenidos en esos peces. Cuando un pescado entero es molido, cocido y prensado una parte de los TG se va con la fase acuosa y es separada en forma de aceite de pescado. Si se utilizan peces de buena calidad el aceite probablemente tenga cerca de 1% de ácidos grasos libres (FFA). Si los pescados se descomponen por enzimas naturales o bacterias antes del procesado algunos FFA se formarán a partir de PL y TG y el aceite tendrá hasta de 4 o 5% de FFA. Usualmente este aceite es más oscuro, más oloroso o rancio, así históricamente el porcentaje de FFA ha sido una guía para determinar la “calidad” del aceite. En nuestro contexto los ácidos grasos libres no son problema. Para margarinas y otros usos ellos conducen a una pérdida económica cuando son removidos al refinar, pero para uso en alimentos los FFA pueden aumentar la digestibilidad del aceite en algunos animales.

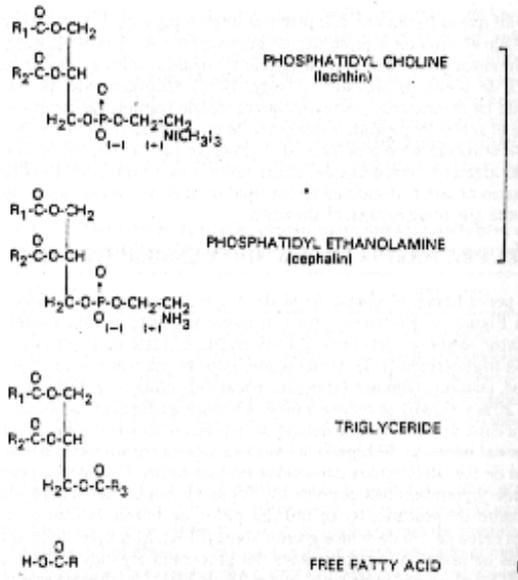


Figura 3. Principales clases de lípidos encontrados en peces y harina de pescado. Los ácidos grasos libres no son importantes en peces vivos, pero se desarrollan en el músculo o en ensilados a partir de PL y TG debido a enzimas.

En el caso de la harina de pescado algunos de los lípidos que se muestran en la Figura 3 no son eliminados durante el procesado, ya que la harina de pescado nominalmente tiene 10% de lípidos y forman parte del producto. Se ha asumido que estos lípidos de la harina de pescado en la mayoría de los casos estaban disponibles para el pez para obtener energía, aunque históricamente, eran extraídos por el método de Soxhlet, que en su mayoría son TG. Nuestro trabajo ha mostrado que el cloroformo-metanol es un sistema de extracción superior (Gunnlaugsdottir y Ackman, 1993). Mi opinión personal es que el rigor del proceso de secado de la harina de pescado, oxida de manera rápida principalmente los lípidos superficiales los cuales podrían ser TG. La mayoría de los peróxidos resultantes se rompen inmediatamente por el calor y pueden reaccionar entre ellos para formar polímeros. Otros pueden reaccionar con los aminoácidos de las proteínas, pero el resto de los lípidos permanecen dentro de las partículas de la harina de pescado seca y permanecen relativamente estables. No hay mucha investigación en

este campo aunque algunos de nuestros colegas en Sudáfrica han sido pioneros en la investigación sobre lípidos de harinas de pescado (e.g., de Koning et al., 1986). Si no se usa un antioxidante (e.g., etoxiquin) se oxidarán algunos de los ácidos grasos (Tabla 3), aparentemente TG y PL sobre todo, (en ése caso principalmente PC) al mismo tiempo que una misteriosa fracción polar removible con acetona móvil identificada previamente (Gunnlaugsdottir y Ackman, 1993) tiende a incrementarse (Tabla 4). Hablando de manera general, las harinas de pescado producidas alrededor de todo el mundo contienen los mismos tipos de lípidos de acuerdo a análisis realizados en nuestro laboratorio (Tabla 5). La buena noticia es que si la harina de pescado es estabilizada con antioxidante entonces hay pocos cambios posteriores en los ácidos grasos (Tabla 3). Si no es estabilizada, entonces los ácidos grasos saturados (eg. 16:0), y los ácidos grasos monoinsaturados (e.g. 18:1n-9) permanecen igual, pero generalmente hay una pérdida considerable a través de la oxidación, de los ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados omega-3 (20:5n-3 y 22:6n-3), considerados como esenciales para la nutrición de los salmónidos. Una regla es que los aceites de pescado y/o lípidos, incluyendo los lípidos de la harina de pescado son un tercio saturados, un tercio son monoinsaturados y un tercio polinsaturados. Por lo tanto, si alguna parte de la producción de harina de pescado tiene menos antioxidante de lo acostumbrado la pérdida por oxidación de las grasas totales disponibles para energía puede ser tan baja como el 5 o 10%, sin embargo, este material puede representar un riesgo de incendio por autooxidación.

Tabla 3. Cambios en los ácidos grasos seleccionados extraídos de harina de pescado menhaden almacenada 60 días bajo nitrógeno o en aire, con o sin antioxidante. Las unidades son g/kg de harina.

Acido graso	Con Etoxiquin		Sin Etoxiquin	
	Nitrógeno	Aire	Nitrógeno	Aire
16:0	150	159	168	160
18:1n-9	49	52	55	51
20:5n-3	68	73	41	13
22:6n-2	101	109	54	15

Tomado de Ackman y Gunnlaugsdottir, 1992

Tabla 4. Lípidos totales y clases de lípidos de Iatroscan TLC-FID (g/kg) de harinas menhaden.

Lípidos	Tratamiento	
	Con antioxidante	Sin antioxidante
Total	137	124
Triglicéridos (TG)	81	39
Acidos grasos libres	16	23
Colesterol	6	8
Digliceridos	3	6
Lípidos polares móviles con acetona	3	16
Material no identificado	9	8
Fosfatidil colina	21	14
Otros	7	7

De: Murata, Lall y Ackman, sin publicar.

Tabla 5. Lípidos totales y clases de lípidos de Iatroscan TLC FID (g/kg) en algunas harinas de pescado representativas.

	Menhaden (USA)	Anchoveta del Pacífico	Norse LT-94 Noruega	Macarela Chilena
Total	126	107	101	77
FFA	84	60	23	52
CHO	5	5	6	7
DG	TR	2	5	5
AMPL	1	2	5	2
UIM	6	4	5	4
PC	19	8	12	8
PM	4	2	<<1	1
Otros	5	6	5	6

^a Para las abreviaciones ver la Tabla 4, PM = material polar.

Tomado de Murata, Lall and Ackman, sin publicar.

El alto costo de la proteína de la harina de pescado ha motivado que se prueben otras fuentes de proteína. La harina de canola se fabrica a partir de variedades bajas en ácido erúico que son también bajas en glucosinolatos. Higgs ha estado particularmente activo en este campo

(Higgs et al., 1994) pero ha estado principalmente interesado en el crecimiento. La harina de soya también ha sido probada en varias especies tales como el bagre *Ictalurus punctatus* y más tarde con los híbridos de lobina rayada *Morone saxatilis* x *M. Chrysops* (Postel et al., 1996). Este último estudio mostró la sensibilidad de la percepción sensorial humana y se detectaron ligeros efectos en el sabor con respecto a los peces alimentados con harinas de pescado.

El aceite producido a partir del cuerpo del pescado está usualmente caracterizado en calidad por el porcentaje de FFA, por el valor de yodo (IV), que refleja el total de ácidos grasos omega-3, y por algún método de cuantificación el grado de oxidación. Esto inicialmente toma forma de peróxidos, pero son inestables y se rompen para formar aldehídos y/o polímeros en reacciones muy complejas (Figura 4). La relación general entre la oxidación y los productos de la oxidación se muestra en la Figura 5. Los valores de peróxido, abreviados PV, arriba de 25 no son comunes, porque los peróxidos se rompen en aldehídos y ácidos grasos volátiles debido al tiempo y en mayor medida con el calor. Los peróxidos son insípidos y no son notados por la mayoría de la gente en los aceites manejados normalmente. Estos son medidos químicamente (las unidades comunes son meq/g). Los aldehídos resultantes de la descomposición de los peróxidos definitivamente son detectados, pero pueden ser considerados como sabores naturales o deseables cuando están presentes en los alimentos a muy bajos niveles. En altos niveles son la principal fuente del familiar olor a pescado. Los aldehídos pueden ser medidos por su reacción con un químico llamado anisidina, por lo tanto, este “valor de anisidina” o AV, refleja mejor la historia de la oxidación del aceite de pescado o de la grasa del pescado. Los valores de anisidina son también números, usualmente en un rango de 5-50 unidades, y en Europa ambos valores (el valor de peróxidos y el valor de anisidina) son combinados para dar el Totox (2PV + AV). Los valores típicos recientemente publicados (Vinter, 1995) para aceite de hígado de bacalao de la calidad de la compañía Lysi de Islandia, y por otras de fuentes anónimas, son enlistados en la Tabla 6.

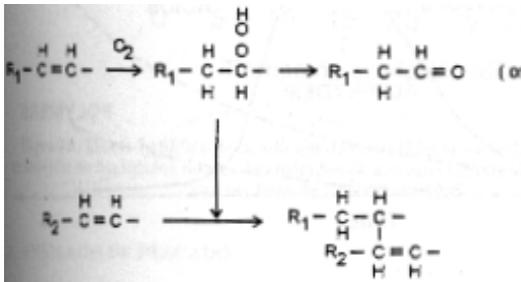


Figura 4. Ejemplos de productos de oxidación y productos de descomposición de peróxidos que reducen la digestibilidad y la palatabilidad del aceite de pescado o de los ácidos grasos de harina de pescado.

Tabla 6. Índices de oxidación química y de panel sensorial para el aceite de bacalo determinados por la compañía Lysi de Islandia y de otras fuentes anónimas

Fuente	Fecha de adquisición	PV	AV	Totox	Descripción de sabor
Lysi	1988	6.9	7.9	21.7	—
Lysi	1988	7.5	3.6	18.6	—
UK-I	1995	11.4	15.9	38.7	Terrible
UK-IV	1995	3.9	58.2	66.0	Sabor fuerte
UK-VI	1995	3.2	20.1	26.5	Terrible

Adaptado de Vinter, 1995

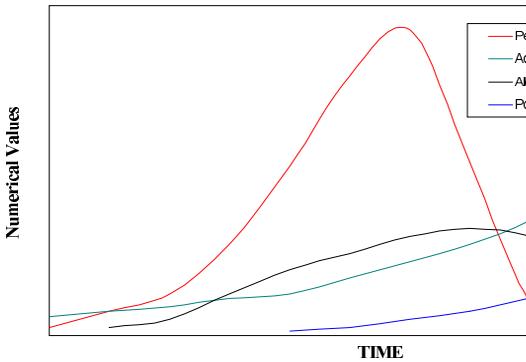


Figura 5. Revisión de reacciones paralelas de un complejo conjunto que pueden

ocurrir en los aceites de pescado, harinas de pescado e incluso también en pescado congelado.

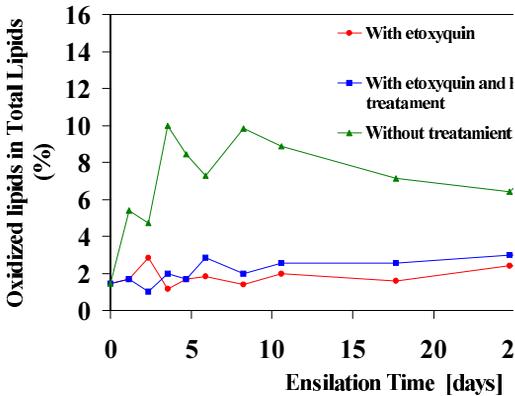


Figura 6. Efecto benéfico de la adición de un antioxidante en la reducción de la oxidación de los lípidos totales de ensilados de arenque almacenados. Reproducido con permiso de Zhou et al., 1995.

3. ENSILADO DE PESCADO

El ensilado de pescado es el producto de la autodigestión, originado por las enzimas presentes en peces o en desperdicios de pescado. La mezcla con ácido fuerte (2-3%) impide el crecimiento bacteriano. Se han utilizado el ácido fórmico (orgánico) y el ácido sulfúrico (mineral). Desde el punto de vista de esta presentación es importante notar que los FFA formados pueden llegar a

constituir hasta el 5% del aceite recuperado. Sin embargo, en este caso los FFA son normalmente recuperados totalmente e incluidos en el aceite que se mezcla con los ingredientes del alimento. Estos FFA son fácilmente absorbidos y digeridos por los peces. Este aceite puede ser protegido de la oxidación durante el ensilado añadiendo un antioxidante o usando un contenedor cerrado, o uno que pueda ser llenado con un gas inerte. La Figura 6 muestra nuestros resultados recientes sobre la determinación de una fracción de lípidos polares oxidados formada durante el ensilado de arenque entero. (Zhou et al., 1995a).

Uno de los métodos que estamos aplicando a estos problemas puede ser no tan familiar para muchos lectores. La tecnología es la de Chromarod-Iatroscan (TLC-FID = cromatografía de capa fina en silica gel con detección por ionización de flama). En la Figura 7 se muestra un cromatograma típico. Esta técnica es muy sensible (1-20 mg de lípidos por Chromarod) y muy flexible (Ackman, 1981; Parrish, 1987). Recientemente, hemos explotado este sistema analítico para investigar los FFA producidos durante el ensilaje del pescado. En aceites muy coloreados el punto final de titulación puede ser difícil de observar, y hemos encontrado que si el nivel de ácidos grasos es bajo, los PL van a a titular y a hacer una contribución a los supuestos FFA (Zhou y Ackman, 1996).

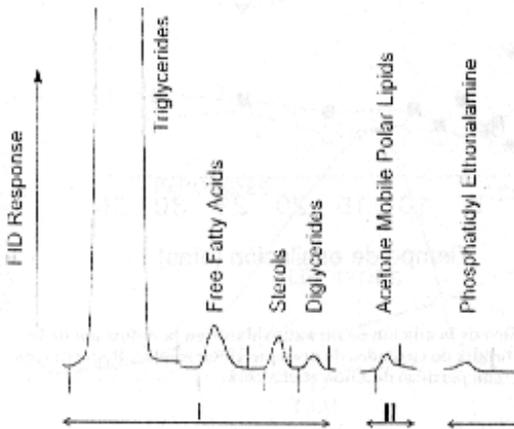


Figura 7. Perfil de Iastroscan-TLC/FID de clases de lípidos de un ensilado de arenque tratado con color después de 24 horas de ensilaje a temperatura ambiente. Los símbolos I, II y III representan cromatogramas parciales de la secuencia de un

desarrollo en 3 fases de lípidos totales en Chromarods SIII. Reproducido con permiso de Zhou et al., 1995.

De alguna manera el ensilado de pescado se asemeja a la harina de pescado, pero una vez producido, normalmente no se calienta y así los peróxidos pueden persistir y reaccionar lentamente con los aminoácidos. De aquí que la vida de anaquel del ensilado sea muy discutida. No siempre está claro si el aceite libre producido debe ser separado, pero si esto se lleva a cabo, debe hacerse tan pronto como sea posible (dentro de las 72 horas) para preservar la calidad del aceite. El almacenamiento largo (2-3 meses) del ensilado de pescado es posible, pero usualmente cualquier aceite restante en el producto rápidamente se deteriorará. Si no se separa el aceite, se debe mezclar un antioxidante para reducir la formación de peróxidos y eventualmente la formación de aldehídos.

Los aldehídos producidos a partir de los peróxidos del aceite y lípidos son una colección muy diversa (Lindsay, 1994) y en pollos y cerdos se cree que son absorbidos y almacenados en depósitos de grasa, produciendo sabor a pescado en sus productos cárnicos. De hecho, frecuentemente son los 20:5n-3 y 22:6n-3 presentes en los depósitos de grasas de estos animales en forma inalterada los que pueden oxidarse después del sacrificio, a menos que se aumenten los niveles naturales de tocoferoles (Ahn et al., 1995). Las interacciones indirectas entre ácidos grasos n6 y n3 pueden ser confusas (O'Keefe et al., 1995). La carne de salmón normalmente contiene niveles tan altos de 20:5n-3, y especialmente de 22:6n-3, que un sabor rancio proveniente de los aldehídos dietarios formados de estos ácidos grasos en particular puede no ser notado. Esto no debe ser una excusa para producir un producto inferior!

4. PROBLEMAS ECONOMICOS DE LA OXIDACION DE LAS GRASAS

Se cree que la reducción de la ganancia en peso en el salmón observada en muchos experimentos alimenticios con productos de ensilado de pescado u otras proteínas, puede deberse a que los peces encuentran desagradable el sabor del alimento, así como a que los productos de la oxidación del aceite del ensilado interfieren con el crecimiento. En la Figura 8 se muestran los resultados de un experimento (Li et al., 1990) conducido en Halifax donde la ganancia de peso en el salmón durante más de 6 meses fue mejor con el alimento a base de ensilado de arenque, pero la tasa de conversión alimenticia fue mejor con el alimento seco hecho a base de harina de arenque (0.49g/g vs 0.33 g/g). No existieron diferencias visibles en la calidad, de los filetes de salmón y durante la evaluación sensorial de la calidad, los panelistas no pudieron distinguir al salmón que consumió la dieta con ensilado. Una repetición de este tipo de estudio (Parrish et al., 1995) dió resultados similares y los panelistas no pudieron distinguir entre los filetes de los pescados alimentados con dietas preparadas a partir de ensilados fermentados de arenque, con respecto a los alimentados con alimento húmedo a base de arenque fresco o con dietas secas a base de harina de arenque. Se realizó un ensayo más drástico en el que se probaron dietas de salmón basado en ensilado, incluyendo el cuerpo y desperdicios de cabeza de tiburón. La carne de esta especie contenía urea, un problema potencial de sabor. Como una consecuencia de este estudio (Heras et al., 1994) se dedujo que la oxidación de los lípidos en el ensilado almacenado por 8 semanas a temperatura ambiente, reducía la palatabilidad de la dieta. La adición de una mezcla de tocoferoles naturales (4 tocoferoles denominados todos como vitamina E, aunque el alfa es el único necesario

para la salud del pez, además de que el tocoferol gamma también funciona como un antioxidante) al ensilado eliminó el problema de valor de peróxidos de los lípidos reduciéndolo a menos de 5 meq/kg cuando se suministró el alimento. Este valor es menor a los 10 meq/kg sugeridos por Hilton y Slinger (1981) como el límite para las dietas de trucha arcoiris. Desafortunadamente, este tipo de información sobre el estado de oxidación de los lípidos pocas veces se proporciona en los alimentos en estudios de nutrición. A pesar de que se ha hecho mucho en trucha arcoiris, también se han investigado los efectos del tocoferol en otras especies como en la lobina rayada (Erickson, 1992 a).

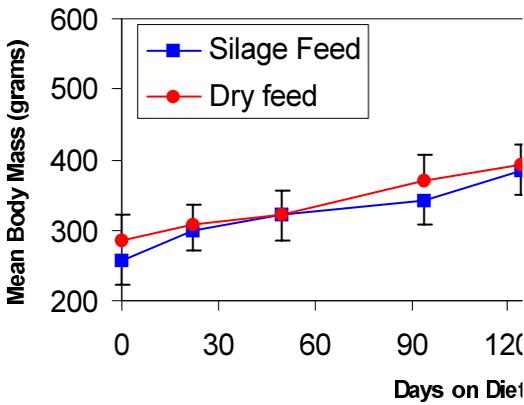


Figura 8. Ganancia en peso de salmón del Atlántico alimentado con un alimento comercial seco y uno ensilado. Reproducido con permiso de Li et al., 1994.

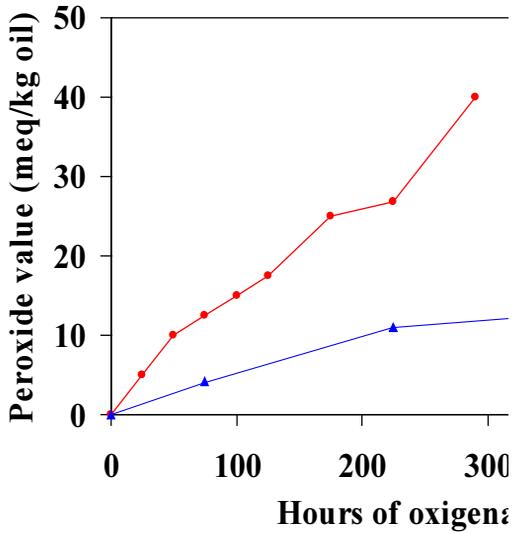


Figura 9. Desarrollo de la oxidación en lípidos de arenque y aceite de canola. HM arenque moderadamente oxidado; CM canola moderadamente oxidada. Adaptado de Koshio et al., 1994.

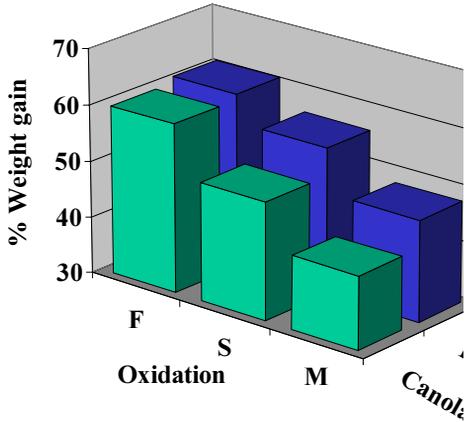


Figura 10. Porcentaje de peso ganado en el salmón del Atlántico alimentado con dietas conteniendo aceite fresco (F), aceite ligeramente oxidado (S), aceite moderadamente oxidado (M). Adaptado de Koshio et al., 1994.

Para tratar de distinguir entre el efecto de la oxidación del aceite de pescado oxidado y otros posibles efectos, se oxidaron intencionalmente aceites de arenque y canola (Figura 9) con los cuales se alimentaron smolts de salmón del Atlántico (Koshio et al., 1994). La Figura 10, indica claramente que en los smolts, el aceite de pescado severamente oxidado (PV 40) tuvo un mejor efecto mayor en la ganancia en peso comparado con el aceite fresco (PV $\ll 1$). El aceite (experimental) se añadió en la dieta a 13.8% de un total de 20% de lípidos crudos extraídos. Sin embargo, en la evaluación sensorial, los panelistas no fueron capaces de distinguir entre los filetes de los diferentes grupos. Se debe enfatizar que se suplementó el nivel normal de vitaminas y minerales en la dieta, pero no se incluyó vitamina E extra. Como se muestra en los estudios de grasa dietética de Polvi y Ackman (1992), parece ser que el salmón del Atlántico es resistente al sabor de los alimentos.

En otro estudio (Sigurgisladdottir et al., 1994), mostramos que si no se administra el alfa

tocopherol por 15 semanas, éste es conservado por el salmón y evidentemente contribuía a su salud y crecimiento normal. Polvi y Ackman (1992) compararon el aceite de canola con el aceite de arenque en dietas para salmón y sus conclusiones fueron similares a las de Hardy (1995). Siempre y cuando se proporcione al menos de 1 a 4% de los ácidos grasos de cadena larga omega-3 en la dieta, otras grasas pueden ser sustituidas por aceite de pescado en la dieta con efectos mínimos sobre el crecimiento y el sabor. Se ha demostrado que en dietas secas, las grasas son estables por varios meses (Hardy et al., 1983). De hecho los autores lamentan que la oxidación sea difícil de detectarse una vez que el alimentos ha sido mezclados. Ostensiblemente, la grasa extra es para energía, pero es también, un agente de control de finos, acarreador de vitaminas liposolubles, etc. El 1-4% deseado de ácidos grasos omega-3 probablemente pueda ser suministrado por la harina de pescado en la dieta (Polvi y Ackman, 1992). Los altos precios actuales pueden llevar a los productores de salmón a eliminar la estricta dependencia de la harina y aceite de pescado. Se ha sugerido recientemente que mucho aceite de pescado en dietas altamente energéticas para salmónidos puede ser contraproducente (Luzzana et al., 1994). En nuestros estudios el aceite de pescado deliberadamente oxidado (y aceite de canola redujeron el crecimiento ligeramente, posiblemente debido a la interferencia de los peróxidos con los procesos fisiológicos de los peces. Un lugar para esto es posiblemente la pared del intestino en donde tiene lugar la absorción de grasas. El salmón del Atlántico original era una especie audaz que evolucionó alimentándose de una gran variedad de presas vivas, por lo que era difícil que encontrarán lípidos autooxidados. Los peces de alimentación bentónica podrían tener una mejor adaptación a este respecto. Es posible que las nuevas líneas de salmón puedan ser bioquímicamente más ó menos tolerantes y es tiempo de considerar investigar sobre la calidad de todos los aceites añadidos a las dietas de salmón antes de que ocurra un desastre. También la calidad aceptable para los adultos puede no ser aplicable para las larvas o juveniles. La variedad steelhead es la trucha arcoiris ahora denominada *Oncorhynchus mykiss* cultivada en agua de mar. El período para alcanzar la talla comercial de *Oncorhynchus mykiss* es corto debido a que son consumidores voraces, pero en Nueva Escocia debido a la baja temperatura del agua en invierno requieren que estos sean cosechados y distribuidos después de almacenarlos en congelación. Podría ser un sistema muy cómodo reforzar la alimentación con antioxidantes naturales en precosecha con una mezcla de tocoferol natural como Covi-Ox T70.

La intensa competencia en el mercado del salmón y el diferente manejo de *O. mykiss* podría conducir a problemas a corto o largo plazo en el almacenamiento por congelación haciendo más aparente cualquier problema de oxidación. Esto es especialmente cierto si hay pérdida de tocoferoles en el almacenamiento en congelación como hemos demostrado para salmón del Atlántico (Ackman y Timmins, 1995), o por el desarrollo de rancidez y formación de aldehídos después de un periodo de almacenamiento en congelación y subsecuente descongelamiento y cocimiento. Hemos observado este tipo de problemas en pollos (O'Keefe et al., 1995) y el problema de "sobrecalentamiento" es notorio en la industria cárnica (Liu et al., 1994). Una investigación a fondo de diferentes aceites y contenidos de vitamina E en alimentos para salmón, y su subsecuente proceso, ha sido publicada en Noruega (Waagbo et al., 1993). La reputación de alta calidad del salmón y de *O. mykiss* es muy buena para ser arriesgada por cambios en la calidad de grasas y aceites, pero en este momento todavía no tenemos la suficiente experiencia en las costas del Atlántico para incidir en todos los aspectos de estos problemas

potenciales.

Uno de nuestros intereses, que puede aplicarse en otros países, es la utilización de aceite de hígado de tiburón para acuicultura. Este puede considerarse no comestible para humanos debido a la presencia de 1-O-alkildialcigliceroles. Algunas veces estos DAGE son simplemente llamados "glyceril-eteres" un término que es ambiguo ya que no está claro si los dos ácidos grasos siguen estando en el último eslabón del glicerol o no. Nosotros hemos alimentado a salmones con aceite de hígado de tiburón (*Squalus acanthias*). Este tiene cerca de 30% de DAGE pero la mayoría de los ácidos grasos de esa clase de lípidos fueron removidos por digestión hidrolítica, haciendo la digestibilidad global de los ácidos grasos del aceite muy buena (Tabla 7). Nuestro trabajo (Kang et al., 1997) se compara favorablemente con los estudios de digestión de Lie y Lambertsen (1991) en bacalao (*Gadus morhua*). Los peces no comestibles tales como los mictofidos también tienen ésteres de ceras en sus lípidos corporales, pero esto no debe ser un obstáculo para su uso en alimentos para peces, ya que la mayoría de los peces parecen ser capaces de digerir este tipo de lípidos. El alcohol 22:1 es de hecho, convertido en el ácido graso 22:1 encontrado en aceites de la mayoría de los peces alimentados a base de zooplancton (Pascal y Ackman, 1976).

Muchas especies de peces son convenientes para la acuicultura. Varios artículos del efecto de los tocoferoles sobre la calidad de los salmones en almacenamiento se enlistan arriba, y otros sobre bagre (*Ictalurus punctatus*) han aparecido en revistas de alimentos (e.g., Erickson, 1992b). Esta especie es muy popular en EU (Nettleton et al., 1990) pero es cultivada en aguas con temperaturas elevadas y tiene un problema peculiar de sabor que viene de los organismos en el agua. El químico es "geosmin" (2-metilisoborneol) y no tiene nada que ver con la autooxidación de los lípidos. Sin embargo, hay una influencia importante de los depósitos de grasa sobre la acumulación de geosmin en el bagre *I. punctatus* (Johnsen y Lloyd, 1992). Estos experimentos son casi exactamente paralelos a nuestros experimentos con hidrocarburos en salmones, indicando que esto es una respuesta general a los residuos en el agua de materiales lipofílicos. En los estudios con salmón nuestro laboratorio examinó el papel de las células de depósito de grasa en el músculo (adipocitos) en el almacenamiento de hidrocarburos de petróleo derivados de petróleo crudo derramado. Los resultados (Ackman et al., 1994; Zhou et al., 1995b) sin embargo son alentadores, ya que la depuración es aparentemente posible en agua limpia, pero el tiempo va a depender del contenido de grasa en el músculo del pescado. Este tipo de problemas debe ser observado por quien esté interesado en el cultivo de peces de agua dulce. Los peces con mucha grasa en el músculo comestible pueden tener también problemas de textura. Normalmente la carne de estos bagres contiene solamente bajos niveles de 20:5n-3 y 22:6n-3, parcialmente introducidos por la harina de pescado (Nettleton et al., 1990). La suplementación con aceite de menhaden puede enriquecer el músculo en ácidos grasos n-3 sin efectos severos en el sabor (Morris et al., 1995). Estos detalles subrayan la importancia de las grasas en la acuicultura de todos los tipos de peces. El crecimiento del pez ha sido siempre el principal objetivo y una excusa para pasar por alto otros factores de calidad, pero se debe reconocer a las grasas igualmente importantes en el mercadeo del producto.

Tabla 7. Digestibilidad aparente (%)a de los ácidos grasos de diferentes dietas en salmón del Atlántico

Acido Graso	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
14:0	82.1 + 3.21	79.3 + 5.48	77.2 + 5.63
15:0 iso	80.6 + 2.96	80.9 + 4.92	78.0 + 5.21
15:0anteiso	85.9 + 1.85	85.1 + 3.75	81.0 + 4.19
15:0	77.9 + 4.09	76.0 + 6.19	74.7 + 5.96
16:0	75.6 + 3.83	74.3 + 6.58	71.9 + 6.93
18:0	72.2 + 4.54	69.7 + 7.20	64.4 + 8.26
20:0	59.4 + 7.03	59.7 + 9.93	58.2 + 6.05
16:1n-7	86.7 + 7.31	87.4 + 3.23	86.9 + 3.23
18.1n-9	85.3 + 6.81	85.5 + 3.37	84.2 + 3.91
20:1n-7	80.7 + 5.73	79.3 + 5.19	78.1 + 5.49
20:1n(9+11)	75.0 + 5.09	71.8 + 6.78	70.9 + 7.09
20:1n-7	73.1 + 5.41	70.1 + 7.57	69.6 + 7.88
22:1n(11+13)	68.8 + 4.76	62.2 + 8.79	60.0 + 9.87
22:1n-9	70.8 + 4.57	60.0 + 9.89	65.2 + 9.30
22:1n-7	61.9 + 7.28	68.5 + 7.20	52.7 + 5.67
18:2n-6	90.3 + 4.17	90.8 + 2.45	90.4 + 0.65
18:2n-4	73.8 + 13.49	69.7 + 7.22	76.7 + 5.87
18.3n-3	88.8 + 5.27	94.7 + 1.34	89.4 + 2.84
18:4n-3	94.2 + 2.52	94.7 + 1.34	94.7 + 1.30
20:4n-3	90.8 + 1.50	91.7 + 2.24	88.4 + 2.89
20:5n-3	95.6 + 2.49	94.1 + 1.43	93.6 + 1.56
22:5n-3	90.2 + 3.41	80.0 + 5.47	76.5 + 6.83
22:6n-3	87.0 + 7.19	86.7 + 3.17	87.2 + 3.39
Acidos grasos totales	86.4 + 3.00	85.1 + 1.83	84.8 + 3.43
Lípidos ^a	84.2 + 1.98	85.8 + 2.77	86.2 + 2.37

^a Dato es la media + SD para cuatro determinaciones de la proporción (%) de ácidos grasos.

^b Grasas adicionadas para: Dieta 1, solamente aceite de hígado de cazón; Dieta 2, mezcla 1:1 de aceite de hígado de cazón y aceite de arenque; Dieta 3, solamente aceite de arenque.

^c La digestibilidad de los lípidos se determinó al comparar la proporción de lípidos y contenido de colestano (standard interno) del peso seco del alimento y heces.

REFERENCIAS

- Ackman, R.G. 1981. Flame ionization detection applied to thin layer chromatography on coated quartz rods. In: J.M. Lowenstein (editor), *Methods in Enzymology*, Vol. 72, Academic Press, New York, pp. 205-252.
- Ackman, R.G. and Gunnlaugsdottir, H. 1992. Seafoods and fishery byproducts: Natural and unnatural environments for longer chain omega-3 fatty acids. In: A. J. St. Angelo (Editor), *Lipid Oxidation in Food*. ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington DC, pp. 208-230.
- Ackman, R.G. and Takeuchi, T. 1986. Comparison of fatty acids and lipids of smolting hatchery-fed and wild Atlantic salmon *Salmo salar*. *Lipids*, 21: 117-120.
- Ackman, R.G. and Timmins, A. 1995. Stability of α -tocopherol in frozen smoked fish. *J. Food Lipids*, 2: 65-71.
- Ackman, R.G., Zhou, S. and Heras, H. 1994. Effect of different lipid levels on the uptake and depuration of petroleum hydrocarbons by Atlantic salmon. In: W.S. Otwell (editor), *Annual Conference Tropical and Subtropical Fisheries Technological Conference of the Americas and Atlantic Fisheries Technology Conference*, Williamsburg VA, August 1993. Florida Sea Grant College Program, Gainesville FL, SGR-114, pp. 388-397.
- Ahn, D.U., Wolfe, F.H. and Sim, J.S. 1995. Dietary α -linolenic acid and mixed tocopherols, and packaging influences on lipid stability in broiler chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.* 60: 1013-1018.
- Anderson, J.S., Lall, S.P., Anderson, D.M. and McNiven, M.A. 1985. Availability of amino acids from various fish meals. *Aquaculture*, 138: 291-301.
- Anderson, J.S. and Lall, S.P. 1994. Nutritive value of fish meal for salmonids. In: D.D. Mackinlay (editor), *High Performance Fish*. Proc. Internat. Fish Physiol. Symp. July 16-21, 1994, Vancouver. Fish Physiology Association, Vancouver, pp. 389-393.
- Bang, H.O., Dyerberg, J. and Sinclair, H.M. 1980. The composition of Eskimo food in northwestern Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 2657-2666.
- Burr, M. L. 1991. Is oily fish good for the heart? *Trends Food Sci. Technol.* 2(1): 17-20
- Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. and Lee, D.J. 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.* 102: 77-85.

- de Koning, A.J., Miklovitch, S., Fick, M. and Wessels, J.P.H. 1986. The free fatty acid content of fish oil - an analysis of anchovy lipids at different stages in the manufacture of anchovy meal and oil. *Fette Seifen Anstrichmittel* 88: 404-406.
- Dyerberg, J. and Jrgensen, K.A. 1982. Marine oils and thrombogenesis. *Prog. Lipid Res.* 21: 255-267.
- Erickson, M.C. 1992a. Lipid and tocopherol composition of farm-raised striped and hybrid striped bass. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A: 171-176.
- Erickson, M.C. 1992b. Variation of lipid and tocopherol composition in three strains of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Sci. Food Agric.* 59: 529-536.
- Gunnlaugsdottir, H., and Ackman, R.G. 1993. Three extraction methods for determination of lipids in fish meal: Evaluation of a hexane/isopropanol method as an alternative to chloroform-based methods, *J. Sci. Food Agric.* 61: 235-240.
- Hamre, K. and Lie, . 1995. a-Tocopherol levels in different organs of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Effect of smoltification, dietary levels of n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E. *Comp. Biochem. Physiol.* 111A: 547-554.
- Hardy, R.W. 1995. Current issues in salmonid nutrition. In: C.E. Lim and D.J. Sessa (Editors), *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. AOCS Press, Champaign, IL, pp. 26-35.
- Hardy, R.W., Mugrditchian, D.S. and Iwaoka, W.T. 1983. Storage stability of lipids in a dry salmonid diet. *Aquaculture*, 34: 239-246.
- Heras, H., McLeod, C.A. and Ackman, R.G. 1994. Atlantic dogfish silage vs. herring silage in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): growth and sensory evaluation of fillets. *Aquaculture*, 125: 93-106.
- Higgs, D.A., Prendergast, A.F., Dosanjh, B.S., Beames, D.M., Deacon, and G., Hardy, R.W. 1994. Canola protein offers hope for efficient salmon production. In: D.D. Mackinlay (editor), *High Performance Fish. Proc. Internat. Fish Physiol. Symp.* July 16-21, 1994, Vancouver. Fish Physiology Association, Vancouver, pp. 377-388.
- Hilton, J.W. and Slinger, S.J. 1981. Nutrition and feeding of rainbow trout. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa, 55: 15 p.
- Holman, R.T., Johnson, S.B. and Hatch, T.F. 1982. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Am J. Clin. Nutr.* 35: 617-623.
- Johnsen, P.B. and Lloyd, S.W. 1992 Influence of fat content on uptake and depuration of the offflavour 2-methylisoborneol by channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 24062411

- Kanazawa, A. 1995. Nutrition of larval fish. In: C.E. Lim and D.J. Sessa (Editors), *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. AOCS Press, Champaign, IL, pp. 50-59.
- Kang, S.-J., Lall, S.P. and Ackman, R.G. 1997. Digestion of the 1-O-Alkyl Diacylglycerol Ethers of Atlantic Dogfish Liver Oils by Atlantic Salmon *Salmo salar*. *Lipids*, in press.
- Koshio, S., Ackman, R.G. and Lall, S.P. 1994. Effects of oxidized herring and canola oils in diets on growth, survival, and flavor of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1164-1169.
- Kromhout, D., Bosschieter, E.B. and de Lezenne Coulander, C. 1985. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New Engl. J. Med.* 312: 1205-1209.
- Lall, S.P. 1987. Fish meal, oil and silage: Requirements for aquaculture. In: *Proceedings Fish Meal, Oil, and Silage Conference*, April 22-23, 1987, Marine Institute, St. John's, Newfoundland.
- Li, H., Parrish, C.C. and Ackman, R.G. 1990. Flavor analysis of fish feeds used in Atlantic salmon farming. *Bull. Aquacul. Assoc. Canada* 90-4: 32-35.
- Lie, and Lambertsen, G. 1991. Lipid digestion and absorption in cod (*Gadus morhua*), comparing triacylglycerols, wax esters and diacylalkylglycerols. *Comp. Biochem. Physiol.* 98A: 159-163.
- Lindsay, R.C. 1994. Flavour of fish. In: F. Shahidi and J.R. Botta (Editors), *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic & Professional, London, pp. 75-84.
- Liu, Q., Scheller, K.K., Schaefer, D.M., Arp, S.C. and Williams, S.N. 1994. Dietary α -tocopheryl acetate contributes to lipid stability in cooked beef. *J. Food Sci.* 59: 288-290.
- Luzzana, U., Serrini, G., Moretti, V. M., Gianesini, C. and Valfrè, F. 1994. Effect of expanded feed with high fish oil content on growth and fatty acid composition of rainbow trout. *Aquacul. Internat.* 2: 239-248.
- Morris, C.A., Haynes, K.C., Keeton, J.T. and Gatlin, D.M. 1995. Fish oil dietary effects on fatty acid composition and flavor of channel catfish. *J. Food Sci.* 60: 1225-1227.
- Nelson, G. J., Schmidt, P.C. and Corash, L. 1991. The effect of a salmon diet on blood clotting, platelet aggregation and fatty acids in normal adult men. *Lipids*, 26: 87-96.
- Nettleton, J.A. 1991. ω -3 Fatty acids: Comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *J. Am. Diet. Assoc.* 91: 331-337.

- Nettleton, J.A. 1995. *w-3 Fatty Acids and Health*. Chapman & Hall, New York,
- Nettleton, J.A, Allen, W.H., Klatt, L.V., Ratnayake, W.M.N., and Ackman, R.G. 1990. Nutrients and chemical residues in one- to two-pound Mississippi farm-raised channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Food Sci.* 55: 954-958.
- O'Keefe, S.F., Proudfoot, F.G. and Ackman, R.G. 1995. Lipid oxidation in meats of omega-3 fatty acid-enriched broiler chickens. *Food Res. Internat.* 28: 417-424.
- Parrish, C.C. 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: 722-731.
- Parrish, C.C., McLeod, C.A. and Ackman, R.G. 1995. Sensory evaluation of Atlantic salmon fed three types of herring-based diet. *J. Sci. Food Agric.* 68: 325-329.
- Pascal, J.-C. and Ackman, R.G. 1976. Long chain monoethylenic alcohol and acid isomers in lipids of copepods and capelin. *Chem. Phys. Lipids*, 16: 219-223.
- Polvi, S. M. and Ackman, R.G. 1992. Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle lipids and their response to alternative dietary fatty acid sources. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1001-1007.
- Postel, R.T., LaDouceur, M., Holbert, D., and Gallagher, M.L. 1996. Texture and flavor of hybrid striped bass fed soybean meal diets. *J. Aquatic Food Product Tech.* 5: 83-91.
- Roy, W.J., Matty, A.J. and Bell, J.G. 1995. Tissue vitamin E concentrations during smoltification and seawater transfer in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquacul. Nutr.* 1: 51-57.
- Schmidt, E.B. and Dyerberg, J. 1994. Omega-3 fatty acids. Current status in cardiovascular medicine. *Drugs* 47: 405-424.
- Sigurgisladottir, S., Parrish, C.C., Lall, S.P. and Ackman, R. G. 1994. Effects of feeding natural tocopherols and astaxanthin on Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillet quality. *Food Res. Internat.* 27: 23-32.
- U.K. Department of Health. 1994. Report on Health and Social Subjects, No. 46, Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. Report of the Cardiovascular Review Group, Committee on Medical Aspects of Food Policy. London: HMSO
- Vinter, H. 1995. Production of high quality fish oils. In: R.J. Hamilton and R.D. Rice, (Editors), *Fish Oil Technology, Nutrition and Marketing*. PJ Barnes & Associates, High Wycombe, pp. 27-33.

- Waagbo, R., Sandnes, K., Torrissen, O.J., Sandvin, A. and Lie, . 1993. Chemical and sensory evaluation of fillets from Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed three levels of N-3 polyunsaturated fatty acids at two levels of vitamin E. *Food Chem.* 46: 361-366.
- Zhou, S., Paulson, A. T. and Ackman, R.G. 1995a. Release of free fatty acids from lipids during ensilation of herring mince: The possible role of ethoxyquin. *J. Food Lipids*, 2: 121-134.
- Zhou, S., Ackman, R.G. and Morrison C. 1995b. Storage of lipids in the myosepta of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiol. Biochem.* 14: 171-178.
- Zhou, S. and Ackman, R.G. 1996. Interference of polar lipids with the alkalimetric determination of free fatty acid in fish lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72: 1019-1023.

EFFECTOS NUTRICIONALES DE LA OXIDACION DE LIPIDOS EN ALIMENTOS PARA PECES

Jan Pettersen, Anders Aksnes, Harald Mundheim and Johannes Opstvedt

**Norwegian Herring Oil and Meal Industry Research Institute (SSF),
Kjerreidviken 16, N-5033 Fyllingsdalen, Bergen, Norway.**

Traducción por: L. Elizabeth Cruz S.

RESUMEN

La harina de pescado contiene aproximadamente 10% de grasa residual, la cual es particularmente propensa a la oxidación debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (es decir EPA y DHA). La información sobre el efecto de grasas oxidadas en la nutrición de peces es escasa. Consecuentemente, realizamos dos experimentos de alimentación con salmón alimentados con harina y aceite de pescado producidos a partir de jurel con y sin adición de antioxidante (AO: etoxiquin).

En el experimento 1 el nivel de oxidación de la grasa residual extraída poco después de la producción se incrementó significativamente en la harina sin adición de AO en comparación a la harina de pescado tratada con AO, lo cual fue demostrado por los altos valores de TOTOX (174 vs. 24) y la intensidad de quimioluminiscencia (QL). La digestibilidad verdadera de la proteína (Dvp) fue menor en las harinas de pescado sin AO tanto al tiempo de producción como después de 10 meses de almacenamiento. No se encontraron diferencias en los índices de oxidación entre los aceites de pescado tratados o no con AO. En un periodo de 12 semanas se alimentaron salmones (peso promedio final= 400g), mantenidos en tanques, con alimentos extruídos conteniendo las harinas y aceites experimentales. Los tratamientos dietarios no tuvieron ningún efecto en la salud de los peces. Los peces alimentados con alimentos conteniendo la harina y el aceite de pescado tratados con antioxidante tuvieron tasas de crecimiento y pesos corporales finales numéricamente mayores comparados con aquellos alimentados con harina y aceite de pescado no tratados, pero únicamente la diferencia en los pesos corporales fue estadísticamente significativa. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos en consumo de alimento y en eficiencia de conversión alimenticia.

En el experimento 2 las harinas y aceites de pescado fueron producidos como se describió para el experimento 1. Después de un mes de almacenamiento la oxidación de los lípidos en la

harina de pescado, sin AO se incrementó comparada con aquella de la harina de pescado tratada con AO (TOTOX: 40 vs. 24), y la QL fue significativamente elevada. No se encontraron diferencias entre los aceites de pescado tratados y no tratados con AO, y la adición de AO produjo valores elevados de QL indicando un efecto pro-oxidativo del etoxiquin en los aceites de pescado. La Dvp de las harinas, en el momento de la producción y después de medio año de almacenamiento a temperatura ambiente, no fue diferente entre las harinas tratadas o no con AO. Los alimentos extruidos producidos con las harinas y los aceites de pescado tratados o no con antioxidante, fueron suministrados a salmones en jaulas marinas por 12 semanas (peso promedio final cerca de 2.3kg). Las tasas de crecimiento y los pesos corporales finales de los salmones alimentados con la harina y el aceite de pescado tratado con AO fueron significativamente mayores que la de los salmones alimentados con harina y aceite de pescado sin AO.

El contenido de astaxantina (Ast) durante el almacenamiento se redujo en los alimentos que contenían la grasa no estabilizada. El nivel de astaxantina en la carne del salmón no fue afectado por el tratamiento dietario, aunque los filetes de los salmones que se alimentaron con grasa no estabilizada parecían más pálidos.

INTRODUCCION

Los efectos nutricionales de las grasas oxidadas en general no han sido bien entendidos. En particular, los efectos de la oxidación de lípidos en alimentos para peces han sido contradictorios. Así, Koshio et al. (1994), Oberbach et al. (1989) y Forster et al. (1988) mostraron que los peces alimentados con aceites de pescado oxidados tenían una ganancia en peso menor que los alimentados con aceites frescos. Por otro lado Hung et al. (1981) y Cowey et al. (1984) no encontraron que el crecimiento disminuyera en peces alimentados con grasas oxidadas.

Los principales componentes de los alimentos comerciales para peces son la harina de pescado (50-60%) y el aceite de pescado (20-30%). Consecuentemente, la calidad de los alimentos para peces depende de la calidad de la harina y del aceite de pescado.

La composición de harina de pescado se muestra en la Figura 1 y los principales componentes de la harina son: proteína, grasa, cenizas (ej. minerales) y agua.

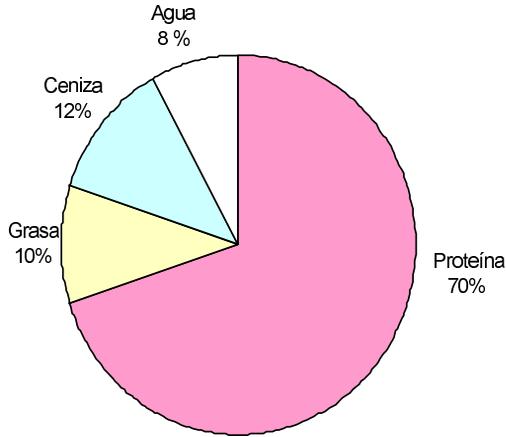


Figura 1. Principales componentes de la harina de pescado

La composición de la grasa residual de 12 diferentes tipos de harinas de pescado producidos en Noruega ha sido analizada en nuestro Instituto. La grasa de la harina contiene 20-40% de fosfolípidos (PL), esto se muestra en la Figura 2. Debido a que los PL son ricos en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LCPUFA) como EPA(20:5n-3) y DHA(22:6n-3). El contenido de LCPUFA en la grasa residual es significativamente mayor que la de los aceites de pescado respectivos. El contenido de EPA y DHA en la grasa residual de las harinas de pescado producidas en Noruega se presenta en la Figura 2. Como se muestra en la Figura la relación entre DHA y EPA es 2. Consecuentemente, debido al alto contenido de LCPUFA la grasa residual es particularmente propensa a la oxidación.

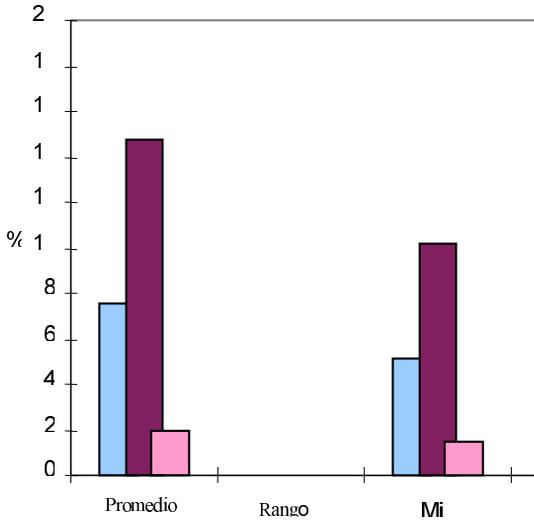


Figura 2. Contenido de EPA (20:5n-3), DHA y relación DHA/EPA de grasas residuales de harinas de pescado Noruegas: Valores promedios, mínimos y máximos (n=12).

En el presente trabajo quisimos estudiar los efectos nutricionales de las grasas oxidadas en los alimentos para peces. Por lo tanto, se realizaron dos experimentos separados con salmones alimentados con harinas y aceites de pescado que fueron producidos con y sin adición de antioxidante, i.e etoxyquin (EMQ). En el primer experimento los salmones se mantuvieron en tanques suplementados con agua marina. Se registraron la tasa de crecimiento y las condiciones de salud de los peces. En el segundo experimento lo salmones fueron de una talla mayor y se mantuvieron en jaulas marinas. En este experimento también se analizó la intensidad del color y el contenido de pigmentos de la carne del salmón. En ambos experimentos se realizaron análisis químicos de los aceites y harinas de pescado y de los alimentos respectivos.

2.MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.HARINA DE PESCADO, ACEITE DE PESCADO Y ALIMENTOS PARA PECES

Dos lotes de harina y aceite de pescado fueron procesados en una planta de harina de pescado Noruega, con un tiempo de intervalo de un año. En ambas corridas la materia prima fue

jurel y se produjeron 2 tipos de harina de pescado: i.e. a una parte se le agregó antioxidante (EMQ) y a la otra no. Los aceites de pescado respectivos que se obtuvieron durante el proceso de las harinas fueron tratadas de la misma manera que las harinas.

La DVP se determinó biológicamente de acuerdo con el método descrito por Skrede (1979) con mink.

Se prepararon alimentos para peces conteniendo las respectivas fracciones de las harinas y de los aceites. El contenido de harina y aceite en los alimentos fue aproximadamente de 60 y 20% respectivamente. Los alimentos peletizados fueron producidos por extrusión y la calidad de los pellets fue registrada.

2.2. ANALISIS QUIMICO

El contenido de los productos de oxidación primaria y secundaria que aparecieron durante el deterioro de la grasa se midió con el valor peróxido (VP) y el valor de anisidina (AV). El TOTOX se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{TOTOX} = \text{VA} + 2 \times \text{VP}$$

El TOTOX fue determinado en los aceites y en la grasa residual, en las harinas de pescado y en la grasa del alimento, después de que la grasa fue extraída de acuerdo al método descrito por Bligh y Dyer (1959) modificado por Hanson y Olley (1963) y Bjrnestad y Hansen (1974).

La intensidad quimioluminiscente (QL) incrementa durante la oxidación de las grasas (Robards et al., 1988). La intensidad de quimioluminiscencia inducida por hipoclorito de sodio y sensibilizada por luminol fue medida directamente en 50mg de harinas y alimentos, i.e. sin hacer una extracción de grasa previa, y en los aceites (Pettersen, 1994).

2.3. EXPERIMENTOS DE ALIMENTACION

2.3.1. EXPERIMENTO 1

Los salmones fueron alimentados por 12 semanas con los alimentos experimentales. Para el experimento se utilizaron aproximadamente 150 peces por cada tanque y había 3 tanques por dieta. El peso de los peces fue registrado al inicio, después de 6 semanas de alimentación y al final del experimento. Las dietas fueron suministradas de acuerdo a una tabla (Austreng et al., 1987), generando 10-20% de alimento no consumido en el primer periodo.

2.3.2. EXPERIMENTO 2

El experimento se llevó a cabo en jaulas en el mar de 5m x 5m x 5m con grupos triplicados conteniendo 175 peces de aproximadamente 1.1kg en cada jaula. El peso de los peces fue registrado al inicio y después de 12 semanas de alimentación. Las dietas fueron administradas ad libitum por una combinación de alimentadores automáticos y de alimentación manual. Se tuvo mucho cuidado para minimizar las pérdidas de alimento.

3.RESULTADOS

3.1.ANALISIS QUIMICOS

3.1.1.EXPERIMENTO 1

La Figura 3 muestra que el TOTOX en la harina de pescado sin adición de antioxidante, inmediatamente después de la producción, fue significativamente más alto que el de la harina a la cual se le había agregado EMQ. Esta diferencia se incrementó aún más después de que las harinas habían sido almacenadas por 9 meses.

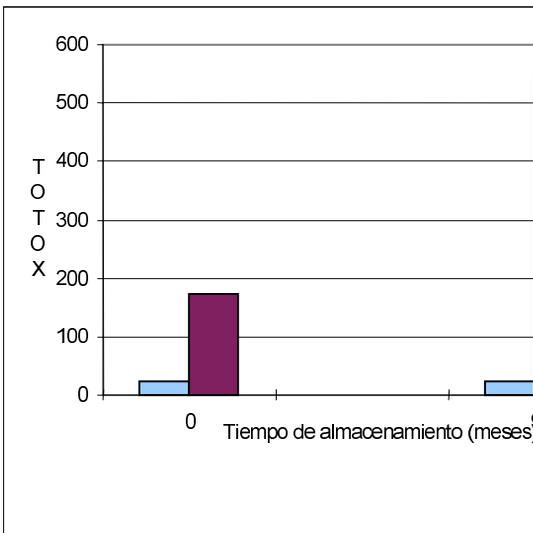


Figura 3. TOTOX en la grasa residual extraída de harinas de pescado que fueron producidas sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ). Los análisis fueron realizados inmediatamente después de la producción y después de 9 meses de almacenamiento.

El TOTOX del aceite con EMQ y sin adición de antioxidante fue de 18 y 15 respectivamente. Consecuentemente, el antioxidante no afectó los niveles de oxidación de los aceites. Esto coincide con experimentos previos.

La Figura 4 muestra que el TOTOX fue significativamente elevado en el alimento que contenía grasa sin antioxidante.

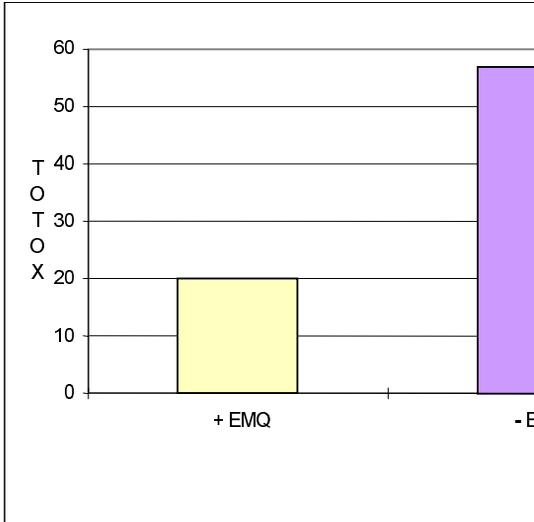


Figura 4. TOTOX de alimentos para peces. Los alimentos contienen harina de pescado y aceite de pescado que fueron o no suplementados sin (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ).

La Figura 5 muestra que la intensidad de QL de la harina sin antioxidante fue significativamente elevada comparada con la de la harina suplementada con EMQ, y que la diferencia se incrementó durante el almacenamiento.

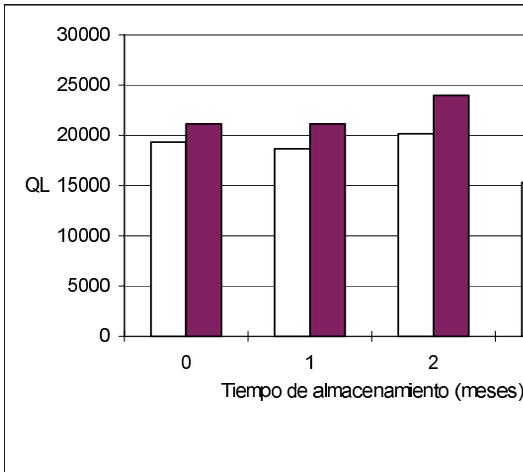


Figura 5. Quimioluminiscencia (QL) en harinas de pescado almacenadas que fueron procesadas sin adición de antioxidante (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ).

La Figura 6 muestra que la QL del alimento conteniendo harina y aceite sin antioxidante fue significativamente mayor que la de los alimentos conteniendo harina y aceite con EMQ.

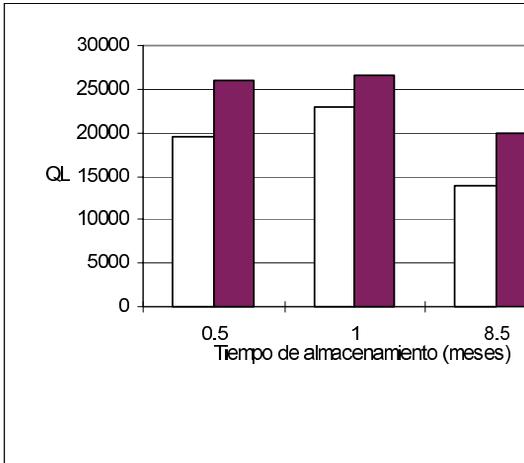


Figura 6. Quimioluminiscencia (QL) en alimentos para peces almacenados a base de harinas y aceites de pescado que fueron suplementados sin (-EMQ) y con antioxidante (+ EMQ).

Consecuentemente, los resultados de los análisis químicos, i.e. TOTOX y QL, muestran que la grasa residual de las harinas de pescado sin antioxidante fue significativamente más oxidada que la harina a la cual se le había agregado EMQ en el momento del procesamiento. Los niveles de oxidación de las diferentes grasas de los alimentos reflejaron la oxidación de la grasa residual de las harinas de pescado.

3.1.2. EXPERIMENTO 2

La Figura 7 muestra que el TOTOX en harinas de pescado recién producidas sin agregar antioxidante fue significativamente mayor que el de la harina con antioxidante. Esta diferencia se mantuvo después de que las harinas fueron almacenadas por 6 meses.

Los valores TOTOX de los aceites de pescado producidos con y sin antioxidante se muestran en la Figura 8. El TOTOX de los aceites de pescado recién producidos no fue significativamente afectado por el tratamiento antioxidante. Después de 6 meses de almacenamiento los valores de TOTOX indican que el aceite sin antioxidante estaba menos oxidado que el aceite tratado con EMQ, i.e. que el EMQ no tuvo un efecto antioxidante en el aceite.

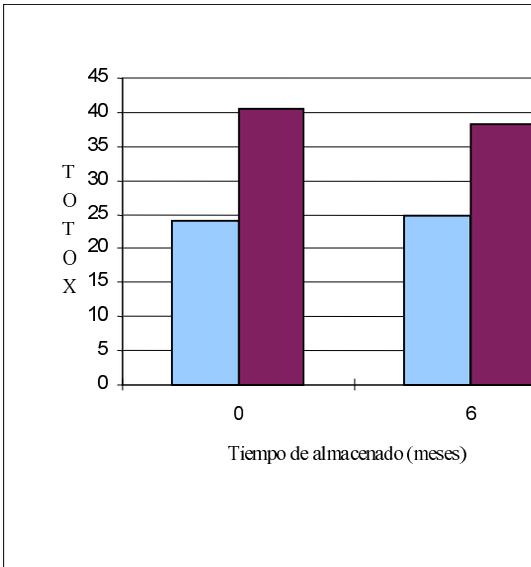


Figura 7. TOTOX de grasas residuales de harinas de pescado producidas sin adición (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ); al tiempo de producción y después de 6 meses de almacenamiento.

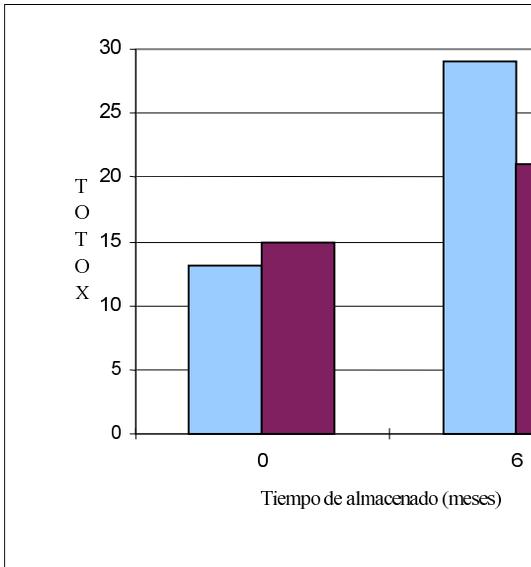


Figura 8. TOTOX de aceites de pescado producidos sin adición (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ); al momento de la producción y después de 6 meses de almacenamiento.

La Figura 9 muestra que el TOTOX de la grasa extraída del alimento con el antioxidante fue significativamente menor que el de la grasa del alimento sin antioxidante. Aunque los valores de TOTOX se redujeron después de 6 meses de almacenamiento, la diferencia en TOTOX entre la grasa de los respectivos alimentos se mantuvo.

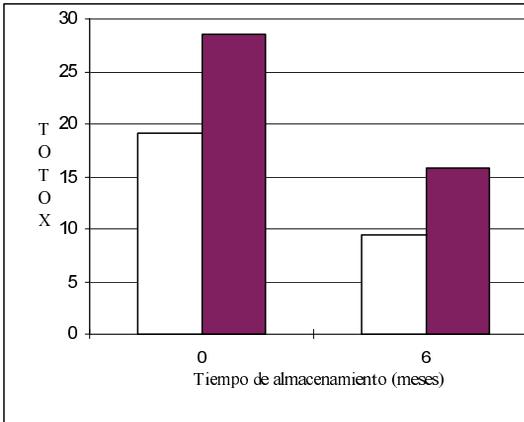


Figura 9. TOTOX de grasa de alimentos con harina de pescado y aceite de pescado sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ); al momento de la producción y después de 6 meses de almacenamiento.

La QL en las harinas, aceites y alimentos se analizó cada mes a partir del tiempo de producción y durante un periodo de 6 meses.

La QL de las harinas fue casi la misma en el momento de producción. Sin embargo, durante el periodo de almacenamiento la QL de la harina sin antioxidante se incrementó significativamente comparada con la de la harina con EMQ. Estos resultados se muestran en la Figura 10.

La Figura 11 muestra que la QL del aceite con antioxidante fue mayor que el del aceite no estabilizado. Esto indica que el EMQ actuó como un oxidante, más que como un antioxidante en el aceite. Estos resultados confirman los resultados del TOTOX, i.e. el EMQ no tuvo efecto antioxidante en el aceite.

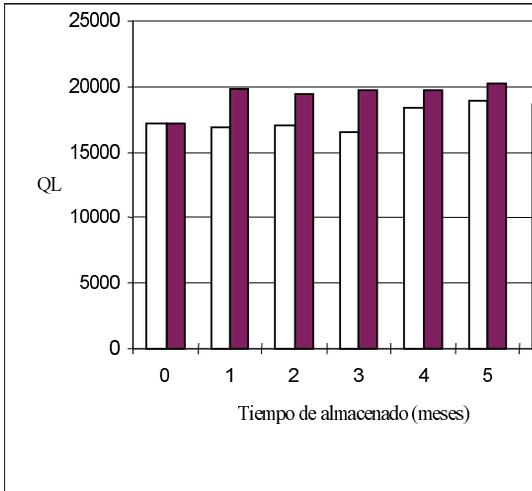


Figura 10. Quimioluminiscencia (QL) de harinas de pescado que fueron producidas sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ); durante el periodo de almacenamiento.

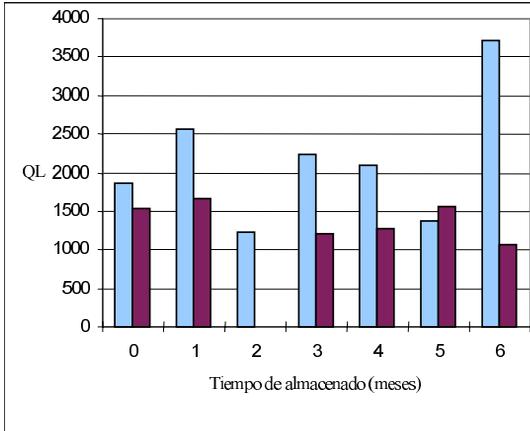


Figura 11. Quimioluminiscencia (QL) de aceites de pescado sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ) durante el periodo de almacenamiento.

La QL de los alimentos de pescado respectivos mostrada en la Figura 12, revela que la grasa del alimento con antioxidante fue menos oxidada que la del alimento sin antioxidante. Esta diferencia también apareció desde el inicio, es decir al momento que los alimentos fueron producidos. Sin embargo, en este momento las harinas y aceites de pescado habían sido almacenadas por 3 semanas. Consecuentemente, cuando los alimentos fueron procesados, la oxidación ya había empezado en la grasa residual no estabilizada.

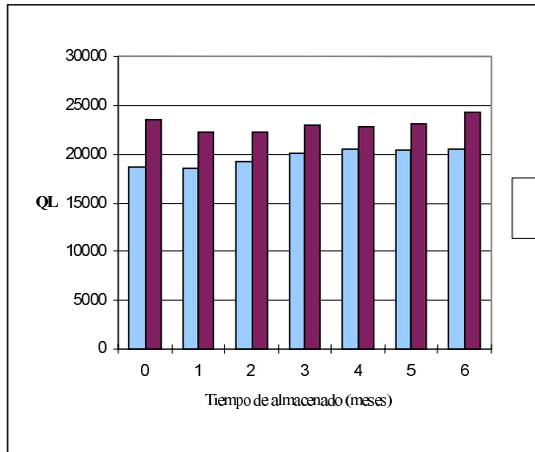


Figura 12. Quimioluminiscencia (QL) de alimentos para peces conteniendo harina de pescado y aceite sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ); durante el periodo de almacenamiento

3.2.EVALUACION BIOLOGICA

3.2.1.EXPERIMENTO 1

La calidad de la proteína de las respectivas harinas, i.e. DVp fue determinada en bioensayos con mink. Esto se hizo después de que las harinas habían sido almacenadas por 2 y 10 meses a temperatura ambiente (aproximadamente 10o C). Los resultados se muestran en la Figura 13.

La DVp en harina sin antioxidante fue 2.1% unidades y significativamente más baja que la de harina con EMQ después de 2 y 10 semanas de almacenamiento. Aun más, la DVp de ambas harinas se redujo después de 10 meses de almacenamiento.

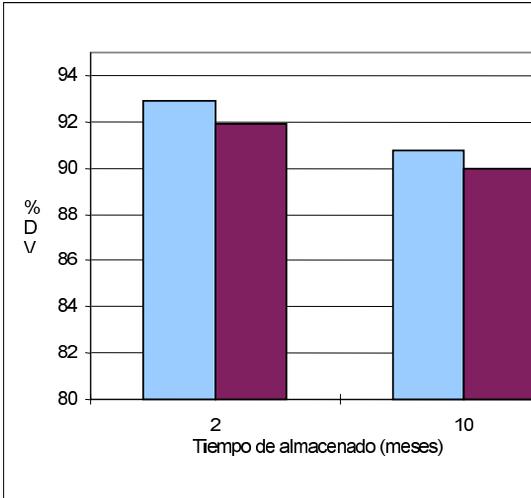


Figura 13. Digestibilidad verdadera de proteínas (DVP; %) de harinas de pescado que fueron producidas sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ). La DVP fue determinada después de 2 y 10 meses de almacenamiento.

El alimento que contenía la harina sin antioxidante promovió una ganancia significativamente menor (3%) después de 12 semanas de alimentación. Esto se muestra en la Figura 14. La diferencia en los pesos promedio después de 6 semanas de alimentación no fue significativa.

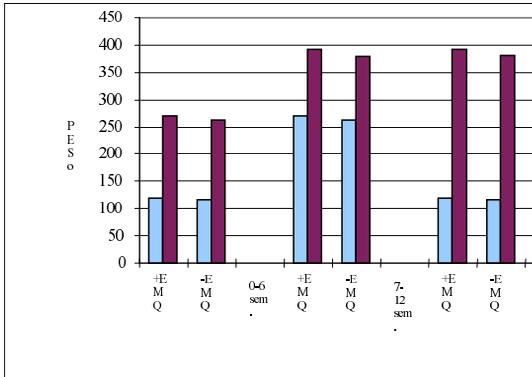


Figura 14. Pesos promedio (g) de salmón en alimentos con harina y aceite de pescado suplementados sin (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ). Los pesos fueron registrados inicialmente y después de 6 y 12 semanas de alimentación.

La Figura 15 muestra que la tasa de alimentación (TA%) fue marginalmente menor en el grupo alimentado con el alimento sin antioxidante. Esto indica que el alimento ‘rancio’ es menos aceptable para el pez. La tasa de crecimiento específico (TCE) de los peces que recibieron el alimento sin antioxidante fue menor, aunque significativo solo en el periodo de 7 a 12 semanas, que el crecimiento de los peces alimentados con dietas con antioxidante. La tasa de conversión alimenticia (TCA) de los peces que consumieron la dieta con antioxidante se redujo significativamente en el periodo de la 7-12 semanas. Sin embargo, la TCA del periodo total de alimentación no fue afectada por las dietas.

La sobrevivencia y la ocurrencia de heridas en los peces que se alimentaban en el periodo no fue influenciada por los tratamientos dietarios.

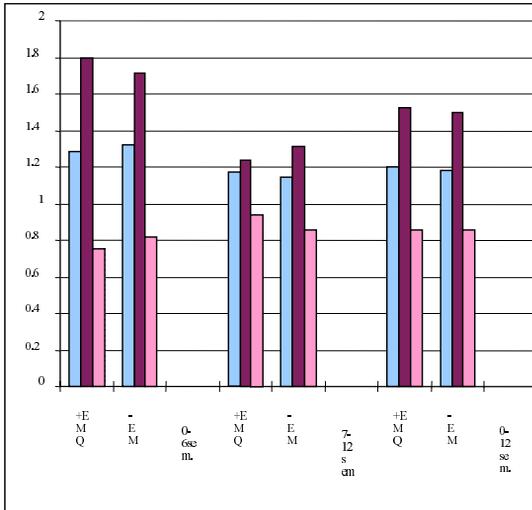


Figura 15. Salmones alimentados con harina y aceite de pescado suplementados sin (- EMQ) y con antioxidante (+ EMQ):Tasa de alimentación (TA; %), Tasa de crecimiento específico (TCE; %) y Tasa de conversión alimenticia (TCA) después de 6 y 12 semanas de alimentación.

3.2.2. EXPERIMENTO 2

La Figura 16 muestra que la DVp inicialmente fue de 90.2% y del mismo nivel para ambas harinas. La DVp disminuyó aproximadamente 89.5% durante los 6 meses de almacenamiento. Aunque algunas diferencias aparecieron en las harinas durante el periodo de almacenamiento la diferencia fue insignificante. Aún más la diferencia en la DVp que apareció en el tiempo de almacenamiento, 0.7% indica que la calidad de la proteína disminuyó un poco, pero esta reducción es considerada como insignificante. Otro punto de interés es que la DVp de las harinas estuvo dentro de los niveles mínimos de harinas de pescado de alta calidad en las cuales la digestibilidad no debe ser menos de 90%.

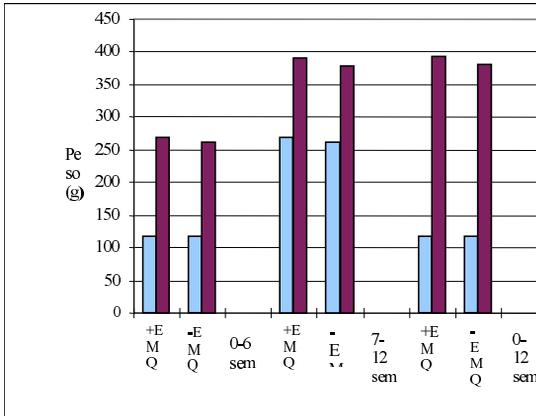
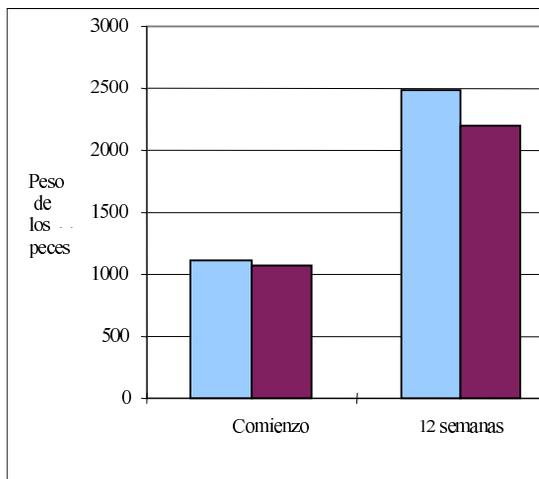


Figura 16. Digestibilidad verdadera de proteínas (DVp; %) de harinas de pescado producidas sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ) al momento de la producción y después de 6 semanas de almacenamiento.

El crecimiento del salmón durante el periodo experimental se muestra en la Figura 17. Los resultados muestran que los peces alimentados con alimentos suplementados con antioxidantes alcanzaron una ganancia en peso significativamente mayor, aproximadamente 13%, que los peces alimentados con grasas no estabilizadas.

La Figura 18 muestra que la TCE y la TCA de salmones que consumieron la dieta sin antioxidante fue significativamente mayor que la de los salmones alimentados con la suplementación de antioxidante. La TC no fue significativamente afectada por los tratamientos dietarios.



17. Salmones alimentados con dietas conteniendo harina y aceite de pescado sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ): Peso promedio al comienzo y al final (12 semanas) del periodo de alimentación.

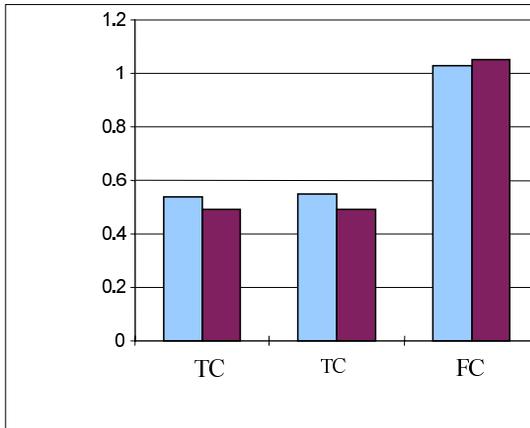


Figura 18. Salmones alimentados con dieta conteniendo harina de pescado y aceite sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ) por un periodo de 12 semanas: Tasa de alimentación (TA; %), Tasa de crecimiento específico (TCE; %) y Tasa de conversión alimenticia (TCA).

La pigmentación o el color de la carne del salmón depende del contenido de Astaxantina. La Astaxantina se oxida fácilmente y como consecuencia la carne se vuelve pálida. De ahí que el contenido de Astaxantina en el alimento sea de importancia. La Figura 19 muestra que durante el tiempo de almacenamiento el nivel de Astaxantina se redujo en la harina no estabilizada en comparación con el alimento con antioxidante. El color de la carne del salmón fue evaluada visualmente, inmediatamente después de terminar el experimento. Esto se realizó comparando la intensidad del color de los filetes con una carta de colores. La evaluación visual indicó, una menor intensidad de coloración en la carne del salmón alimentado con grasa no estabilizada en comparación con el salmón alimentado con la dieta con antioxidante, aunque esta diferencia no fue significativa. El contenido de Astaxantina en la carne del pescado reveló que no había diferencia con respecto a los tratamientos dietarios; el contenido de Astaxantina fue 4.6 y 4.7 ppm respectivamente en la carne de los peces que recibieron la harina con antioxidante y la harina no estabilizada.

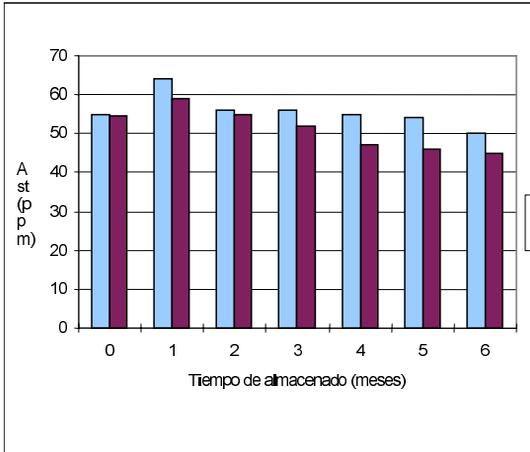


Figura 19. Contenido de Astaxantina (Ast) (ppm) en alimentos basados en harina y aceite de sin (- EMQ) y con adición de antioxidante (+ EMQ) durante el periodo de almacenamiento.

4.DISCUSION

En ambos experimentos los análisis químicos de la grasa residual de la harina de pescado, i.e. TOTOX y QL revelaron que la harina no estabilizada se oxidó durante el procesamiento. Durante el almacenamiento la diferencia en los niveles de oxidación entre las dos harinas se mantuvo o aún más se incrementó (Experimento 1). Entonces, el antioxidante también estabilizó la grasa residual de la harina de pescado durante el almacenamiento. Aunque el EMQ no tuvo efecto antioxidante per se en el aceite de pescado (Experimento 2), los análisis de los alimentos que contenían aproximadamente 20% de aceite mostraron que el EMQ estabilizó la grasa del alimento.

La evaluación biológica de las proteínas de la harina de pescado en el experimento 1 mostró que la Dvp fue significativamente reducida en la harina de pescado no estabilizada en comparación con la harina de pescado estabilizada. Sin embargo, la Dvp de ambas harinas fue aceptable, es decir mayor de 90%. La diferencia entre la Dvp de éstas harinas se mantuvo después de 10 meses de almacenamiento, aunque la Dvp de ambas harinas aparentemente se redujo un poco debido al almacenamiento.

En el Experimento 2, la Dvp de ambas harinas estuvo al mismo nivel. Después de medio año de almacenamiento no hubo diferencias entre la DVP de las harinas, aunque tendía a decrecer

durante el almacenamiento en ambas harinas. Entonces en este experimento los resultados mostraron que la EMQ no tenía efecto en la digestibilidad de la proteína de las harinas. Esto no concuerda con los resultados correspondientes en el Experimento 1. Sin embargo, la digestibilidad de la proteína de ambas harinas en el experimento 2 fue más baja comparada con la Dvp determinada en las harinas del experimento 1. Esta diferencia en la calidad entre las harinas puede deberse a algunas variaciones en el procesamiento de la harina de pescado. De ahí que, la mejora en la calidad obtenida por la adición del antioxidante en el Experimento 1 se haya perdido en el Experimento 2, debido quizás a incidentes desfavorables durante el procesamiento de la harina.

La grasa de los alimentos para peces se oxidó menos cuando el alimento tenía harina y aceite de pescado estabilizados. Esto indica que los antioxidantes de los ingredientes, por el EMQ, también estabiliza la grasa del alimento. Esto se mostró en ambos experimentos, aunque en el Experimento 2 los niveles de oxidación de harinas y de los aceites no fueron influenciados por el antioxidante antes de que los alimentos fueran producidos.

Consecuentemente en ambos experimentos, los salmones alimentados con harina y aceite de pescado estabilizados recibieron grasa menos oxidada. En el Experimento 1 la talla de los peces fue menor, esto es los pesos promedios iniciales y finales durante el periodo de crecimiento fueron aproximadamente 120g y 400g respectivamente. Los resultados indican una tasa de crecimiento reducida en los salmones que fueron alimentados con la grasa no estabilizada. Aunque la diferencia fue marginal sobre las tasas de alimentación, una reducción en la aceptabilidad de los alimentos con grasa oxidada puede explicar la menor ganancia en peso durante el periodo de crecimiento total.

En el experimento 2 la talla de los peces fue significativamente mayor que en el Experimento 1, esto es los pesos promedios iniciales y finales fueron 1kg y 2.3 kg, respectivamente. La ganancia en peso de los salmones alimentados con la grasa estabilizada fue significativamente mayor que la de los salmones alimentados con las dietas sin antioxidantes. Aún más, en este experimento la tasa de alimentación se redujo significativamente en el grupo de peces alimentados con grasa oxidada.

Entonces, ambos experimentos indican que la grasa oxidada en los alimentos causa una reducción en la aceptabilidad y en la tasa de crecimiento de los salmones.

Aunque la concentración de Astaxantina en el alimento no estabilizado se redujo durante el almacenamiento, en comparación con la dieta con antioxidante, el nivel de Astaxantina en la carne de salmón no fue afectado por el nivel de oxidación de la grasa dietaria. Sin embargo, el color de los filetes pareció ser afectado por los tratamientos dietarios, ya que los filetes de salmón alimentados con las dietas sin antioxidantes fueron visualmente calificados (aunque no significativamente) como más pálidos que los filetes de los salmones alimentados con dietas con antioxidante.

Entonces, los resultados indican que los filetes de los salmones alimentados con grasa estabilizada pueden alcanzar mayores intensidades de color, aunque esta mejora no haya sido debido al contenido de Astaxantina en la carne.

De éstos resultados podemos concluir que la oxidación de la grasa residual, en las harinas de pescado ocurre durante el procesamiento y el almacenamiento de la harina. La oxidación de la grasa disminuye la calidad de la proteína de la harina. La grasa del alimento de los peces fue estabilizada por el antioxidante que se incluyó al estabilizar las harinas y los aceites de pescado. Los salmones que fueron alimentados con grasas oxidadas mostraron un menor crecimiento, lo cual puede ser explicado por una disminución en la aceptabilidad de las grasas oxidadas del alimento.

Aunque la presencia del EMQ en el alimento pareció proteger la Astaxantina contra la oxidación, la pigmentación de la carne del pescado alimentado con dietas sí estabilizadas no fue afectada.

REFERENCIAS

- Austreng, E., Storbakken, T. and Åsgård, T., 1987. Growth rate estimates for cultured Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 60: 157-160.
- Bjornstad, J. and Hansen, P. 1974. Digestibility of hydrogenated marine fat (HMF) in milk replacers for calves. *Z. Tierphys. Tierernähr. Futtermittelkd.*, 33: 126-137.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911- 917.
- Cowey, C.B., Degener, E., Tacon, A.G.J., Youngson, A. and Bell, J.G., 1984. The effect of vitamin E and oxidized fish oil on the nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) grown at natural varying water temperatures. *Br.J. Nutr.*, 51: 443-451.
- Forster, I., Higgs, D.A., Bell, G.R., Dosanjh, B.S. and March, B.E., 1988. Effects of diets containing herring oil oxidized to different degrees on growth and immunocompetence of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Can.J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 2187-2194.
- Hanson, S.W.F. and Olley, J., 1963. Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochem. J.*, 89: 101P-102P.
- Hung, S.S.O., Cho, C.Y. and Slinger, S.J., 1981. Effect of oxidized fish oil, DL-(α -tocopheryl acetate and ethoxyquin supplementation on the vitamin E nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed practical diets. *J. Nutr.*, 111: 648-657.
- Koshio, S., Ackman, R.G. and Lall, S.P., 1994. Effects of oxidized herring and canola oils in diets on growth, survival, and flavor of atlantic salmon, *Salmo salar*. *J.Agric. and Food Chem.*, 42: 1164-1169.
- Oberbach, von H., Totovic, V. and Hartfiel, W., 1989. Effects of differently high oxidized fats

in feed of rainbow trouts (*Salmo gairdnerii*, R.) on the need for vitamine E and selen. *Fat Sci. Technol.*, 91: 148-153.

Pettersen, J., 1994. Chemiluminescence of fish oils and its flavour quality. *J.Sci.Food Agric.*, 65: 307-313.

Robards, K, Kerr, A.F. and Patasaladis, E. 1988. Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods - A review. *Analyst*, 113: 213-224.

Skrede, A., 1979. Utilisation of fish and animal byproducts in mink nutrition: IV. Fecal excretion and digestibility of nitrogen and amino acids in mink fed cod fillet or meat- and bone-meal. *Acta Agric. Scan.*, 29: 241-257.

EFFECTO DE ACEITES OXIDADOS Y DEFICIENCIA EN VITAMINA “E” Y/O ANTIOXIDANTE ARTIFICIAL EN DIETAS PARA CAMARON

*Denis Ricque-Marie.¹, L. Elizabeth Cruz-Suárez¹,
Pablo San Martín-Del Ángel¹ Ian Pike²*

**¹UANL/FCB Programa Maricultura, Cd. Universitaria A.P. F-56,
San Nicolás de los Garza, Nuevo León 66450, México.
Tel/fax + (8) 352 6380
E-mail: dricque@ccr.dsi.uanl.mx.**

**² International Fish Meal and Oil Manufacturers Association, 2 College Yard, Lower
Dagnall Street, St. Albans, Hertfordshire AL3 4PA, United Kingdom
Tel+ 44 (0) 1727 842844. Fax + 44 (0) 1727 842866
E-mail: ifoma@compuserve.com**

RESUMEN

La oxidación de los aceites de pescado puede llevar tanto a una reducción de su contenido en ácidos grasos poliinsaturados, esenciales para el camarón, como a la formación de productos de oxidación de mal sabor, posiblemente tóxicos.

Por otro lado, existe una relación entre los niveles alimenticios de ácidos grasos poliinsaturados y el requerimiento en acetato de tocoferol (vitamina E), antioxidante natural necesario para el organismo.

Así mismo, tanto los ácidos grasos esenciales como la vit.E son susceptibles de oxidarse durante el proceso de manufactura, especialmente largo, de las dietas acuícolas y su almacenamiento en condiciones tropicales, lo que justifica el uso de niveles altos de antioxidantes sintéticos en las fórmulas.

Con el objeto de conocer mejor la importancia relativa de esos tres problemas para el crecimiento y la salud del camarón, se realizó un bioensayo nutricional con juveniles de la especie *Penaeus vannamei* (peso inicial 0.25g, 10 individuos por acuario, 5 acuarios replicados por dieta) en medio controlado, con dietas prácticas (32% de proteína) formuladas según dos diseños factoriales: # I) 3x2 dietas conteniendo 7.5% de aceite de menhaden oxidado a 3 niveles (no oxidado (NO), moderadamente oxidado (MO) y altamente oxidado (AO), con valor de peróxidos (VP) de 6, 50 y 100 meq/kg respectivamente), y vitamina E a 2 niveles de

suplementación (acetato de tocoferol 0 y 100mg/kg), en presencia de ETQ (130mg/kg); # II) 2x2 dietas conteniendo 7.5% de aceite altamente oxidado (VP = 100meq/kg) con 2 niveles de suplementación en vitamina E (0 y 100mg/kg) y en ETQ (0 y 130mg/kg).

En el diseño experimental # I los grupos alimentados con aceite AO presentaron tasas de consumo de alimento y crecimiento significativamente menores ($p < 0.05$) a los 28 y 42 días, mientras la tasa de conversión no fue afectada. Los camarones alimentados con dietas deficientes en vitamina E mostraron una alta mortalidad, más temprana (42 días) para los que recibieron el aceite fresco. La relación hepatosomática aumentó con el grado de oxidación del aceite y disminuyó con la deficiencia en vitamina E.

En el diseño experimental # II las dietas deficientes en vitamina E o ETQ generaron una alta mortalidad, particularmente temprana (significativa a los 28 días) en el caso de la doble deficiencia, pero no hubo efecto sobre el consumo de alimento, el crecimiento y la tasa de conversión en los primeros 42 días. La relación hepatosomática fue aún más afectada por la ausencia de suplementación en ETQ que por la deficiencia en vitamina E.

Los resultados del bioensayo y análisis químicos complementarios sugieren que:

1. Solo un alto grado de oxidación (VP = 100meq/kg) en el aceite de pescado, poco probable en condiciones comerciales, disminuye el consumo de alimento y como consecuencia el crecimiento, probablemente debido a la baja palatabilidad de los productos de oxidación.
2. Las dietas no suplementadas en vitamina E provocan mortalidades importantes, más tempranas en presencia de un aceite de pescado fresco, de muy buena calidad. La ausencia de antioxidante sintético aumenta este efecto.
3. La atrofia del hepatopáncreas señalada en casos de rancidez del alimento, parece estar ligada a la destrucción de la vitamina E y no a la presencia de productos de oxidación.

INTRODUCCION

Este trabajo es parte de un proyecto común de nuestro programa con la IFOMA, con el objetivo de determinar la calidad de aceites y harinas de pescado necesaria para la nutrición de camarón.

Una revisión detallada de la oxidación de los lípidos en aceites de pescado y sus efectos en peces y crustáceos fue presentada en el Segundo Simposium de Nutrición acuícolas (Ricque et al., 1994), por lo que a continuación solo se mencionan los puntos más importantes.

La calidad nutricional de los aceites de pescado para camarón es una función directa de su contenido en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI), especialmente los insaturados (de tipo ω_3 , los cuales son esenciales para el camarón. La cantidad de esos ácidos grasos

insaturados depende de varios factores (Opstvedt, 1985):

1. El pescado: algunas especies como anchoveta y menhaden son más ricas en AGPI que otras como el arenque o la capelina. También la estación es importante, ya que la captura de invierno puede ser menos rica en AGPI.
2. La degradación de los lípidos en las diferentes etapas del proceso:

-Durante el almacenamiento del pescado crudo, las enzimas presentes en los tejidos y principalmente en las bacterias liberan ácidos grasos libres; a esto se le llama rancidez hidrolítica, la cual es prácticamente bloqueada por la cocción del pescado. El porcentaje de ácidos grasos libres en las harinas de pescado es por lo tanto un indicador de la degradación de la materia prima antes del proceso, y un valor alto (10%) anuncia menor palatabilidad y menor crecimiento en camarón con respecto a una harina hecha con pescado de mayor frescura (Ricque et al., 1998). El uso de aceites producidos a partir de arenque mal conservado también deprime el crecimiento y la retención de astaxantina en salmón (Albrektsen y Mundheim, 1998).

-Durante el proceso de secado se genera la rancidez oxidativa, la cual da como resultado la producción de radicales de ácidos grasos y consecuentemente de radicales peróxidos, moléculas muy activas que propagan la reacción, creando nuevos radicales de ácidos grasos. A parte de los peróxidos (productos intermediarios), la rancidez oxidativa genera productos terminales como cetonas y aldehidos, distinguidos por su sabor y olor desagradables. Esos productos pueden ser cuantificados por indicadores como: el valor de peróxidos, el valor de ácido tiobarbiturico (TBA) y el valor de anisidina.

Son pocos los experimentos sobre los efectos de la rancidez oxidativa en alimentos para camarón, aunque una enfermedad fue descrita por Liao (1992) en Taiwán, conocida como la enfermedad del camarón rojo descolorido; este síndrome ocurre cuando se alimentan los camarones con peces rancios de desecho, provocando mortalidades asociadas a lesiones de necrosis y atrofia del hepatopáncreas.

En Filipinas, De la Cruz et al. (1989) realizaron un experimento que demuestra los daños ocasionados por la oxidación durante el almacenamiento de un alimento en condiciones tropicales: mantuvieron un alimento (particularmente alto en grasa: 17%, sin antioxidante sintético) a las temperaturas de 0, 10, 28 y 40°C durante 10 semanas y encontraron que el alimento rancio (conservado a 28 o 40°C) disminuye el crecimiento y eventualmente provoca mortalidades asociadas con lesiones necróticas del hepatopáncreas.

Por otro lado, Koshio et al. (1994) demostraron que la oxidación a un nivel mediano (Valor de Peróxidos de 50 meq/kg) de un aceite de hígado de pescado, tenía poco efecto sobre postlarvas de *Penaeus japonicus*, pero sin tomar en cuenta los niveles de antioxidantes naturales o sintéticos en las dietas.

Una serie de trabajos recientes tienden a demostrar la importancia de los antioxidantes

naturales y sus interacciones con los w4-omega [w3-AG-PI en la modulación de la respuesta inmune y de la resistencia al estrés de organismos acuáticos marinos (Lall, 1998; Montero et al., 1998; Verlhac et al., 1998]. Hardy y Roley (1998) mencionan que los efectos patológicos de los lípidos en proceso de oxidación son ligados a la toxicidad de los productos de oxidación, y a las deficiencias en vit.E y vit.C causadas por la destrucción de esas vitaminas durante el almacenamiento de los alimentos. También anuncian que la disminución actual de la producción global de aceites de pescado podría aumentar la posibilidad de encontrar aceites de pescado de mala calidad a la venta para su uso en alimentos acuáticos.

El primer objetivo del presente estudio fue determinar cuál sería un nivel máximo aceptable de oxidación en los aceites de pescado destinados a la alimentación de camarón, en presencia de vitamina E y etoxiquin para evitar cualquier efecto sobre el crecimiento y la tasa de conversión en camarones juveniles *Penaeus vannamei*.

El segundo objetivo fue relacionar los indicadores químicos (peróxidos, TBA y anisidina) con algún efecto tóxico en camarón, tratando de provocar mortalidades y atrofia del hepatopáncreas, mediante el uso de aceites de pescado oxidados a niveles mediano y alto, y la supresión del suplemento en antioxidantes naturales y/o sintéticos en la fórmula del alimento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dos muestras de aceite de Menhaden fueron oxidadas por burbujeo de aire en tubos de vidrio conteniendo el aceite a 98o C, e inmediatamente estabilizadas con etoxiquin después de su oxidación. El aceite de pescado fresco no oxidado (NO) presentó un valor de peróxido de 6 meq/Kg; este valor aumentó hasta 50 meq/Kg después de 6 horas de burbujeo (aceite medianamente oxidado = MO) y 100 meq/Kg después de 20 horas de burbujeo (aceite altamente oxidado = AO). Se registró un aumento paralelo para los valores de TBA (de 15 a 27 y 53 mg malonaldehído/kg respectivamente) y anisidina (de 26 a 52 y 183 unidades DO x 100), describiendo un incremento globalmente lineal de los productos de oxidación.

Al contrario, la pérdida de ácidos grasos poliinsaturados fue sustancial solo en la muestra de aceite altamente oxidado. Los contenidos de ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), los cuales son los AGPI de más importancia para el camarón, no fueron modificados en el aceite moderadamente oxidado, pero en el aceite altamente oxidado fueron disminuidos en aproximadamente un 15% de su valor inicial para el EPA y 20% para el DHA. También el total de w3-AG-PI en w3 fue inferior en un 15% en comparación con el aceite fresco (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de ácidos grasos en muestras oxidadas de Menhaden (mg/g)

Acido graso	No Oxidado	Moderadamente Oxidado	Altamente Oxidado
20:5n-3 (EPA)	126.8	124.7	105.7
22:6n-3 (DHA)	99.4	98.0	80.9
Total polyenes	391.1	386.9	331.2
Total n-3	309.9	305.5	259.1
Total n-6	25.9	26.0	23.4
n3/n6	11.9	11.7	11.1
POV (meq/ kg)	6.1	50.5	100.3
TBA(mgMA/kg)	15.8	27.5	53.7
V.A. (OD x 100)	26.3	52.6	183.5

Las 3 muestras de aceite de pescado fueron incluidas en diferentes dietas experimentales con una fórmula de base muy similar a la de una dieta comercial; la única diferencia importante es que las harinas de pescado y de camarón fueron desgrasadas, de tal manera que la mayor parte de los lípidos fue proporcionada por el aceite de Menhaden, incluido al 7.5% en la fórmula (Tabla 2). El contenido de proteína fue de 32% y la mezcla vitamínica incluía una forma estable de vitamina C, pero no vitamina E.

Tabla 2.- Fórmula

Ingredientes	% inclusión
Harina de pescado	13.0
Pasta de soya	13.0
Harina de camarón	4.0
Gluten de trigo	8.0
Harina de trigo	52.8
Mezcla vitamínica	0.250
Metionina	0.108
Fosfato monosódico	1.269
Aceite de menhaden	7.5
Antioxidante "ETQ"	0.0130
Vitamina "E"	0.0100

Una forma protegida de vitamina E y un antioxidante sintético, la etoquin, fueron incluidos en las dietas de acuerdo a un diseño experimental (Tabla 3), que permite análisis de varianza bifactoriales sobre dos grupos de alimentos: alimentos 1 a 6 para evaluar los efectos del grado de oxidación del aceite y de la suplementación de vitamina E; alimentos 5 a 8 para evaluar los efectos de la suplementación en vitamina E y etoquin cuando el aceite es altamente oxidado.

Tabla 3. Formulación de los alimentos-diseño experimental

Aceite	No Ox.	Mod. Ox.	Alt. Ox.	Alt. Ox.
Vit.E 100ppm	No Si	No Si	No Si	No Si
ETQ 130ppm	Si	Si	Si	No
Dieta #	1 2	3 4	5 6	7 8

Los alimentos fueron distribuidos a juveniles de *Penaeus vannamei* de 0.2g de peso inicial durante 56 días, en 5 acuarios replicados por alimento experimental con 10 camarones por acuario.

Al final del experimento los camarones fueron sacrificados, y se peso por separado el hepatopáncreas y el resto del cuerpo para calcular la relación hepatosomática. Inmediatamente después fueron congelados en Nitrógeno líquido para realizar un análisis de vitamina E (Roche, Basel Suiza).

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de los alimentos terminados demostró un aumento muy fuerte de los peróxidos en los alimentos con aceite altamente oxidado y sin etoquin. Este aumento fue limitado en presencia de vitamina E (Figura 1).

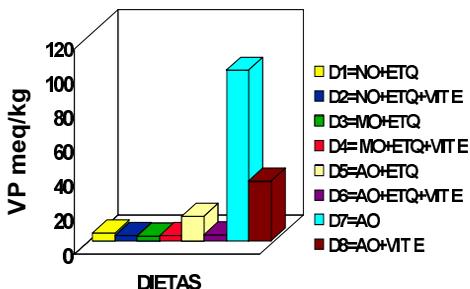


Figura 1. Contenido de peróxidos en la dietas experimentales

NO, MO y AO = No, Medianamente o Altamente Oxidado,
 + ETQ + VIT E = suplementos dietarios de etoquin y vitamina E

En términos de crecimiento, se observó un efecto significativo del nivel de oxidación del aceite a los 28 y 42 días, las dietas 5 a 8 que contenían el aceite altamente oxidado dieron un crecimiento 15% inferior al de las dietas 1 a 4 (Figura 2).

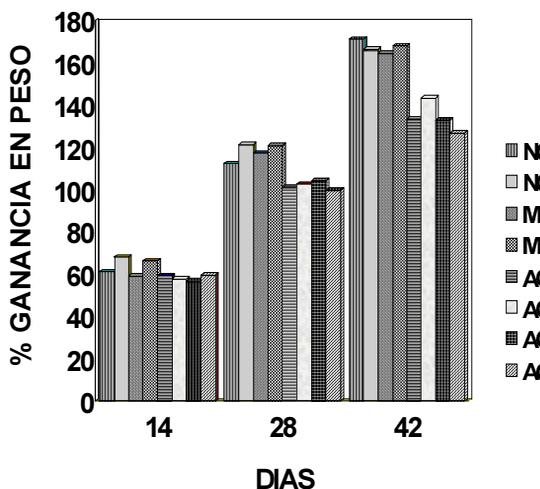


Figura 2. % de Ganancia en peso

La vitamina E no tuvo efectos sobre crecimiento, y tampoco el etoxiquin. No fue posible comparar los crecimientos a los 56 días, ya que se presentaron altas mortalidades en varios tratamientos.

Se obtuvo un patrón de respuesta similar en consumo del alimento. A partir del día 28 el consumo fue significativamente inferior para las dietas con aceite altamente oxidado (AO), pero los otros 2 factores, vitamina E y etoxiquin, no tuvieron efectos en general (Figura 3).

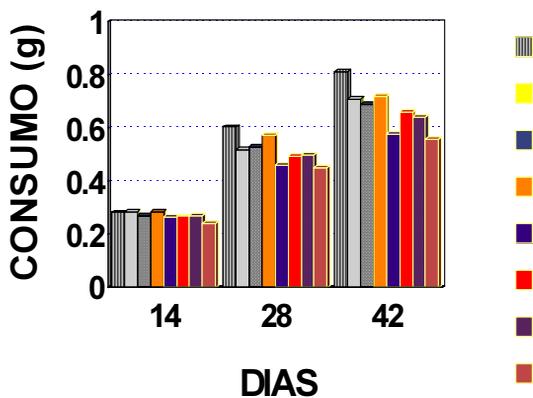


Figura 3. Consumo de alimento (g)

El consumo inferior con los aceites altamente oxidados explica el crecimiento inferior, ya que la tasa de conversión no fue modificada en general (Figura 4).

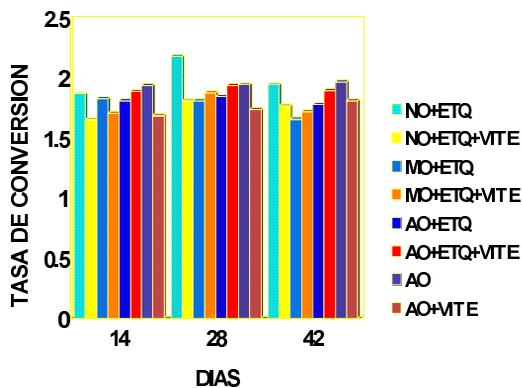


Figura 4. Tasa de conversión alimenticia

Considerando el efecto general de los tres factores del presente experimento, ninguno de ellos tuvo un efecto significativo sobre la tasa de conversión.

Eso confirma lo que demostraron Koshio et al. (1994) sobre *Penaeus japonicus*, con niveles moderados de oxidación en el aceite de pescado: compararon el efecto de la oxidación de los lípidos en dietas a base de aceite de maíz o de aceite de hígado de abadejo (*Pollachius*), y demostraron que la rancidez afecta a la tasa de conversión solo con el aceite de maíz, es decir, cuando el aporte de EPA y de DHA es insuficiente (Figura 5). Con el aceite de pescado como fuente principal de lípidos, el requerimiento es satisfecho, y una pequeña reducción en el aporte de AGPI, debida a la pérdida por oxidación, no afecta significativamente la calidad nutricional del alimento. Probablemente es el caso en nuestro experimento para las dietas #4 a 8 suplementadas con aceite altamente oxidado.

Lo que es sorprendente en los resultados de tasa de conversión, es la mala eficiencia de la dieta 1 que contiene el aceite de pescado fresco no oxidado, sin suplementación de vitamina E. Parece que combinar una deficiencia en vitamina E con un aceite de excelente calidad no es benéfico, o en otros términos que no se puede compensar la ausencia de vitamina E por el uso de un aceite de pescado de alta calidad en excelente estado de conservación, como se podría creer a priori, pensando evitar un efecto tóxico de los productos de oxidación sobre el camarón.

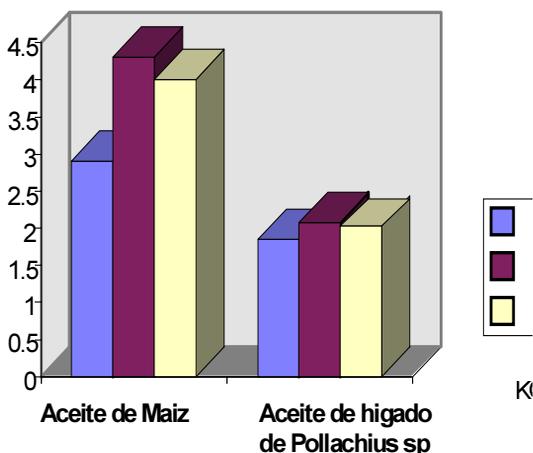


Figura 5. Efecto de la rancidez oxidativa sobre la tasa de conversión alimenticia en *Penaeus japonicus* (0.2g).

La explicación de la mala respuesta con la dieta 1 podría residir en la necesidad acentuada de antioxidantes naturales en los organismos recibiendo una dieta rica en AGPI altamente oxidables. Eso ha sido confirmado por varios autores recientemente. En postlarvas de *P. vannamei*, Ruff et al. (1998) observaron un crecimiento significativamente mayor en dietas con bajos niveles de w3-AG-PI, vit.E y vit.C (antioxidante natural sinérgico de la vit.E) que en dietas suplementadas con altas concentraciones de w3-AG-PI y bajos niveles de vit.E y C o altos niveles de w3-AG-PI y vit.E y baja concentración de vit.C. Ya que normalmente altos niveles de w3-AG-PI resultan en un mejor crecimiento, sugieren que las bajas concentraciones de vit.E pueden proteger los bajos niveles de w3-AG-PI lo suficiente contra la peroxidación, pero no los altos niveles.

El mismo tipo de interacción entre altos niveles de w3-AG-PI aportados por aceite de hígado de calamar y bajo nivel de vit.C demostró aumentar la expresión de un comportamiento típico de estrés en *Pagrus major* (Blom et al., 1998). También se detectaron niveles reducidos

de vit.E y aumentados de malondialdehído (producto terminal de oxidación medido por la reacción de TBA) y glutathione peroxidasa Se-dependiente, como indicadores de estrés oxidativo en larvas alimentadas con *Artemia* enriquecidas con niveles superóptimos de w 3 AGPI (Mourente et al., 1998).

La mortalidad se analizó tomando en cuenta el número de acuarios replicados presentando una mortalidad inferior al 40% del número inicial de organismos, a diferentes tiempos del bioensayo (Figura 6).

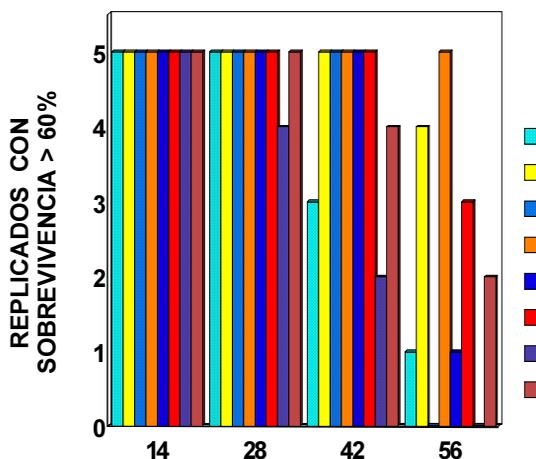


Figura 6. Número de acuarios replicados con mortalidad inferior a 40%.

Al principio del experimento, cada alimento tenía 5 acuarios replicados, pero después de 15 días las mortalidades fueron importantes para algunos acuarios que perdieron 40% o más de sus camarones; esos acuarios fueron eliminados, ya que la densidad disminuida de camarones afecta los otros parámetros de la evaluación, en particular, el crecimiento. Por otro lado, los camarones sobrevivientes fueron sacrificados para determinación de vitamina E. Se puede observar a los 56 días que las dietas 1, 3, 5 y 7 perdieron casi todos sus replicados; para la dieta 7, la cual era deficiente a la vez en vitamina E y etoquin, las mortalidades fueron importantes desde los 28 días. También la dieta 1 con aceite fresco, pero sin vitamina E, ya había perdido 2 replicados a los 42 días. Los análisis estadísticos mostraron efectos significantes de ambas suplementaciones, en vitamina E y en ETQ para reducir la mortalidad, pero el efecto del nivel de oxidación sobre la mortalidad no fue significativo.

Estudios recientes confirmaron la utilidad de los antioxidantes sintéticos, como el Butylhidroxitoluene (BHT) para mantener buenos crecimientos y sobrevivencia con dietas almacenadas a 40°C durante 10 semanas. En tales condiciones, las dietas sin BHT dieron crecimientos 15 a 20% inferiores y sobrevivencias disminuidas de 10 puntos (Bautista-Teruel y Subosa, 1998).

La vitamina E fue analizada sobre todos los camarones al final del experimento: es evidente la relación entre suplementación alimenticia en vitamina E y altos contenidos de vitamina E en el hepatopáncreas o en el resto del cuerpo de los camarones (Figura 7).

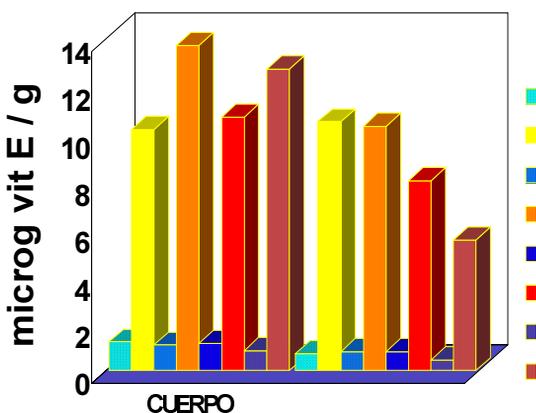


Figura 7. Contenido de vitamina E en cuerpo y hepatopáncreas

Para las dietas 2, 4, 6 y 8 (suplementadas con vit.E), se observa una disminución del nivel de vit.E en el hepatopáncreas para las dietas con aceite altamente oxidado, y una disminución todavía mayor cuando además se quitó el suplemento de ETQ. Es interesante observar la correlación casi perfecta entre el nivel de vit.E en el hepatopáncreas y el número de replicados con sobrevivencia mayor al 60%. Esta relación no se observa entre la sobrevivencia y el nivel de vit.E en el resto del cuerpo, sugiriendo que el hepatopáncreas sería el órgano sensible para juzgar del estrés oxidativo en el camarón.

Para las dietas 1, 3, 5 y 7, que no recibieron suplemento de vit.E, los niveles de vit.E inferiores a 2 mg/g tanto en el hepatopáncreas como en el resto del cuerpo, correlacionan también perfectamente con sobrevivencias inferiores al 60% en casi todos los replicados de esos tratamientos.

Al contrario de lo que se esperaba, la relación hepatosomática se incrementó para las dietas con aceite de pescado altamente oxidado ($P = 0.04$) (Figura 8).

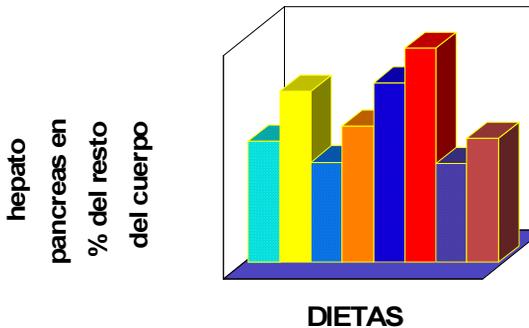


Figura 8. Relación hepatosomática

Una disminución muy ligera (no significativa) de la relación hepatosomática ocurrió en las dietas deficientes en vitamina E. Esta disminución fue significativa para las dietas deficientes en etoxiquin. Por lo tanto, nuestra interpretación es que el factor determinante en la atrofia del hepatopáncreas (observado por el uso de dietas rancias) es la ausencia de antioxidantes naturales y/o sintéticos en las dietas, y no el grado de oxidación, como se esperaba a priori. Este hecho, junto con la falta de un efecto significativo en la sobrevivencia, lleva a descartar los productos de oxidación como causa de mortalidades asociadas a una atrofia del hepatopáncreas en camarones consumiendo alimentos balanceados conservados a alta temperatura y deficientes en antioxidantes artificiales, o dietas a base de pescado de desecho rancio.

Cabe mencionar que se ha demostrado en Europa que el uso de pescado de desecho fresco para alimentar reproductores de turbot permitió duplicar los niveles de vit.C en los huevos obtenidos de esos reproductores, con respecto al uso de lotes de pescado no seleccionados sobre su frescura (Lavens et al., 1998). De esta manera los niveles de vitamina C se mantuvieron a la par de los obtenidos con una dieta especial para maduración, demostrando que el uso de desecho de pescado fresco como fuente alimenticia en los cultivos intensivo de camarón en Taiwan no parece un practica errónea, al menos en cuanto a aportes de antioxidantes naturales.

CONCLUSIONES

Efecto de aceites oxidados

El uso de aceite de Menhaden medianamente oxidado (Valor Peróxidos 50 meq/Kg valor TBA 27 mg Ma/Kg, Valor Anisidina 52 unidades Odx100) no presenta ningún riesgo para la salud o el crecimiento de camarones juveniles *P. vannamei*.

Un aceite de pescado altamente oxidado (VP=100 meq/Kg, TBA=54 mg Ma/Kg, VA 183 ODx100) no presentó toxicidad significativa para juveniles de *Penaeus vannamei*; sin embargo, disminuyó ligeramente, pero significativamente, el crecimiento y el consumo de alimento sin afectar la tasa de conversión, probablemente debido a la mala palatabilidad de los productos de oxidación. Por otro lado, la relación hepatosomática aumento significativamente con el grado de oxidación del aceite.

Efecto de la deficiencia de vitamina “E”

La ausencia de suplementación de vitamina E, provocó altas mortalidades en camarones *Penaeus vannamei* juveniles. Por lo tanto, cuando la rancidez oxidativa ocurre durante la fabricación o almacenamiento del alimento, el factor crítico parece ser la destrucción de los antioxidantes naturales, como la vitamina E, y no la oxidación de los AGPI.

Efecto de los antioxidantes sintéticos

La supresión del antioxidante sintético en el alimento favoreció una mortalidad precoz y la atrofia del hepatopáncreas. La omisión de la suplementación con un antioxidante sintético probablemente permitió a corto plazo la destrucción del residuo de vit.E inherente a los ingredientes de la dieta, dando lugar a una carencia dietaria en vit.E. Este mecanismo aparece como la probable causa de las mortalidades ligadas al uso de dietas rancias en general. Por lo tanto, la dosis dietaria de etoxiquin, o cualquier otro antioxidante artificial de bajo costo, tiene que ser suficiente para asegurar todavía un residuo confortable después del pre-almacenamiento (tratamiento con vapor de la mezcla de ingredientes), pelletización y almacenamiento de los alimentos acuícolas en condiciones tropicales.

AGRADECIMIENTOS

Por su contribución a esta investigación, agradecemos a Mr. Anthony Bimbo (Zapata Proteins, Reedville, Virginia, USA); Ing. Ricardo Soto C., Ing. Rocio Garibay A., Ing. Moisés Valle y Guadalupe Zea Juárez (Dressen Quimica, México D.F.); M.C. José Arango (Roche Ecuador), Dr. Basile Cafantaris, Dr. J. Broz y Dr. D.W. Shuep (Roche Basel, Suiza); M.C. Benjamin Ruiz, Dra. Julia Dibner, Dr. William Shermer (Novus International, Inc., México y St Louis, Missouri, USA); M.C. Jesús Zendejas y Dr. Georges Chamberlain (Ralston-Purina, México y St Louis, Missouri, USA); Ing. Roberto Téllez, Q.F.B. Bertha Alicia Garza y Q.F.B. Maria Del Roble (Técnicas Nutricionales, Monterrey, México); Dr. Ian Pike (IFOMA, Londres, U.K.); Proyecto 100-5-1572-A9208, CONACYT, México; Proyecto C11*-CT93-0300, Directorate of International Scientific Cooperation, Commission of the European Community, Bruselas, Bélgica.

BIBLIOGRAFIA

- Albrektsen, S. and Mundheim, H., 1998. Raw material freshness —effect on fish oil quality. P. 95 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition, Programme and Abstract Book of the VIII International Symposium on Nutrition and Feeding of Fish, Las Palmas de Gran Canaria, Spain, June 1-4 1998.
- Bautista-Teruel, M.N. and Subosa, P.F., 1998. Butylated Hidroxitoluene: its effects on the quality of shrimp diets stored at various temperatures. P. 92 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition (op. cit.).
- Blom, J.H., Nomoto, S., Sakakura, Y. and Koshio, S., 1998. Nutrition and fish quality for restocking behavior in red seabream (*Pagrus major*) as affected by dietary vitamin C and squid liver oil levels. P. 175 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- De la Cruz, M.C., Erazo G. and Bautista M.N., 1989. Effect of storage temperature on the quality of diets for the prawn *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 80:87-95.
- Hardy, R.W. and Roley, D.D., 1998. Lipid oxidation: causes, prevention, detection, and biological effects on fish. P. 75 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Koshio, S., Teshima S. and Kanasawa, A., 1994. Effects of dietary oxidized oil for *Penaeus japonicus*. *Fisheries Science*, 60 (3): 283-298.
- Lall, S., 1998. Dietary lipids, immune function and pathogens of disease in fish. P. 169 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Lavens, P., Lebegue, E., Jaunet, H., Brunel, A., Dhert, Ph. And Sorgeloos, P., 1998. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot (*Scophthalmus maximus*) broodstocks. P. 199 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L. and Vergara, J.M., 1998. Low vitamine E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. P. 171 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Mourente, G., Tocher, D.R., Diaz, E., Grau, A. and Pastor, E., 1998. Study of the (n-3) HUFA requirements and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at *Artemia* feeding stage. P. 207 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Liao, 1992. Diseases of *Penaeus monodon* in Taiwan: a review from 1977 to 1991. p113-137 in Fulks and Main (Eds) Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States. Proceedings of a workshop in Honolulu, Hawaii, April 27-30, 1992, published by the Oceanic Institute, Makapuu Point, PO Box 25280, Honolulu, Hawaii 96825.

- Opstvedt, J., 1985. Lípidos de Pescado en Nutrición animal. IAFMM Boletín técnico. IFOMA, 2 College Yard, Lower Dagnall Street, St Albans, Hertfordshire AL3 4PA, United Kingdom, 31 pp.
- Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L.E. y San Martín-Del Ángel, P. 1994. Efecto de la rancidez en los alimentos acuícolas. In: Mendoza-Alfaro, R., Cruz-Suárez, L.E. y Ricque-Marie, D. (Eds.) Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 7-9 Noviembre, 1994. Monterrey, N.L., México.
- Ruff, N., Lavens, P., Huo, J.-Z., Sorgeloos, P., Nelis, H.J. and Deleenher, A., 1998. Antioxidative effect of dietary tocopherol and ascorbic acid on production performance of *Penaeus vannamei* postlarvae. P. 36 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.
- Verlhac, V., Obach, A., Gabaudan, J., Schüep, W. and Hole, R., 1998. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). P. 173 in Recent Advances in Finfish and Crustacean Nutrition.

FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS ACUICOLAS

Carlos Campabadal¹ y Alberto Celis²

**¹Asociación Americana de Soya.
Universidad de Costa Rica
Tel (506) 234 8325. Fax (506) 2244634.**

**²Asociación Americana de Soya. México, Centro América y el Caribe
Río Sena No. 26. Col Cuauhtémoc 06500. México D.F. México.
Tel (5) 7051633/705039. Fax (5) 7051758.**

INTRODUCCION

La elaboración de alimentos de alta calidad es una necesidad de vital importancia para el desarrollo de la industria acuícola. La calidad de estos alimentos, está determinada por el tipo, calidad y composición de ingredientes que se utilicen, la formulación de la dieta y por los métodos de procesamiento empleados en su elaboración.

El tipo de ingrediente y su nivel en la ración influirá en la composición nutricional del alimento, así como en su presentación. La formulación de la dieta será acorde con la cantidad de nutrimentos necesarios para satisfacer los requerimientos diarios de las diferentes especies, con el fin de obtener los máximos rendimientos productivos. El método de procesamiento empleado determinará las características físicas de los alimentos, tales como la estabilidad en el agua, su forma y tamaño. El procesamiento también puede influir en las características químicas de los alimentos: la atractabilidad, palatabilidad y disponibilidad de nutrimentos.

CALIDAD DE LOS INGREDIENTES

En la elaboración de los alimentos acuícolas, las fuentes de ingredientes pueden ser clasificadas en 4 categorías:

1. Fuentes de energía
2. Fuentes de proteína
3. Fuentes de vitaminas y minerales
4. Aditivos no nutricionales

FUENTES DE ENERGIA

Las fuentes de energía que se utilizan en la elaboración de productos acuícolas incluyen: 1) cereales como el maíz, sorgo y trigo; y 2) subproductos agroindustriales, como los derivados del arroz, del trigo, aceite de soya, de palma, etc.

En el caso de los cereales la variación nutricional —entre ellos— es mínima, el problema más serio es el contenido de humedad, que no sólo produce una dilución de nutrientes, sino también puede favorecer el desarrollo de hongos y sus micotoxinas. La molienda también puede verse afectada por el grado de humedad del cereal, especialmente cuando ésta sobrepasa el 16%.

La calidad nutricional de los subproductos se ve afectada principalmente por adulteraciones con productos como: cascarillas, carbonato de calcio y otros materiales. Estas adulteraciones no solo diluyen el nivel de los nutrientes, sino que pueden causar desbalances nutricionales y alteraciones del sistema digestivo, además de constituir un engaño económico. La presencia de micotoxinas también es común en los subproductos agroindustriales.

Los aceites se utilizan no sólo como fuente de energía sino como fuente de ácidos grasos Omega 3 y Omega 6. El aceite de pescado, el de bacalao y el de soya son los más utilizados. La calidad de estos aceites está determinada por el nivel de insaturación, por el contenido de ácidos grasos libres y por el nivel de oxidación. Existe una gran variabilidad en su calidad, sin embargo, los valores de MIU (humedad, impurezas y sustancias no saponificables) no deben pasar de 2%.

FUENTES DE PROTEINA

Desde un punto de vista nutricional las fuentes de origen animal, como la harina de pescado, la harina de cabeza de camarón y la harina de calamar, son las más utilizadas en la formulación de alimentos acuícolas, aunque muchos nutriólogos también utilizan la harina de carne y hueso y la harina de sangre (Akiyama y Polanco, 1995; Jauncey y Ross, 1982).

El principal problema con las fuentes de origen animal es su procesamiento; un alto porcentaje de las harinas de origen animal presentan problemas de sobre-cocimiento, con la respectiva disminución en la cantidad de aminoácidos disponibles, o la producción de tóxicos como la mollerossina. En nuestro laboratorio encontramos valores con índices de pepsina que fluctúan entre 50% y 90%. Otro problema que tienen las harinas de origen animal es la gran variabilidad en su composición nutricional, debido a las diferentes partes o tejidos que pueden componer el producto. Jauncey y Ross (1982), establecen que la proteína cruda en harinas de camarón, dependiendo de si ésta harina es elaborada de camarón entero o de desperdicios de la limpieza de los camarones, puede variar entre 49% y 74%; además, el nivel de quitina afectará la digestibilidad, dado que es completamente indigestible.

Uno de los productos más variables, de acuerdo con nuestro laboratorio, es la harina de

pescado. Éstas se han clasificado en tres categorías según su contenido de proteína (tabla 1), lo que indica una gran variabilidad en su composición.

Tabla 1. Variabilidad en el porcentaje de Proteína de la Harina de Pescado

Clasificación	% de muestras
<<55%	21.30
55-65%	50.50
>>65%	28.20

N= 202

La harina de carne y hueso es también un producto que presenta alta variación en su contenido proteico, especialmente cuando contiene altos porcentajes de hueso, además su nivel de grasa es alto.

Por otro lado, en los últimos años ha existido un gran auge en el uso de proteínas de origen vegetal, especialmente por los productos de soya, como son la pasta de soya y la soya integral; estos ingredientes han producido excelentes rendimientos, tanto biológicos como económicos (Lawrence et al, 1985; Lovell, 1984; Akiyama, 1988; Akiyama, 1992; Lim y Dominy, 1989; Lim y Dominy, 1990). Desde el punto de vista de calidad, estos productos son muy estables y existen pocas variaciones nutricionales; el principal problema que se puede presentar con los productos de soya es el procesamiento, ya que puede producir un material crudo o sobrecocinado. Para las especies terrestres, valores de índice de solubilidad de proteína entre 75% y 85% corresponden a productos de soya bien procesados; según Akiyama (1992), la solubilidad óptima para especies acuícolas se encuentra entre 60% y 80%. En la tabla 2 se presentan las especificaciones de calidad para productos de soya utilizados en los alimentos acuícolas (Akiyama, 1988).

Tabla 2. Especificaciones de calidad de productos de soya

Nutrimiento	Harina de soya (44%)	Harina de soya (48%)
Proteína, mínimo	44.00	48.00
Grasa, mínimo	0.50	0.50
Fibra, máximo	7.00	3.50
Humedad, máximo	12.00	12.00
Actividad ureásica	0.05-0.20	0.05-0.20

Existen otras fuentes de proteína vegetal que también se usan en la formulación de dietas

para especies acuícolas. Entre las más comunes están la harina de semilla de algodón, la de canola, la de girasol y la harina de maní. El problema de estas fuentes es la presencia de algunos factores antinutricionales, un incompleto perfil de aminoácidos y el desarrollo de micotoxinas, que limitan su uso (Lim y Dominy, 1988). La composición de estas fuentes también se ve afectada por el procesamiento y las adulteraciones.

FUENTES DE VITAMINAS Y MINERALES

El principal problema que se presenta con las fuentes de vitaminas y de minerales es la estabilidad de las vitaminas en presencia de minerales traza, así como el efecto del procesamiento y el almacenamiento. Tal vez la vitamina que más se afecta, de gran importancia en la formulación de dietas para especies acuícolas, es la vitamina C. O'keefe y Grant (1991), establecen que todos aquellos métodos que ayuden a remover el oxígeno durante el procesamiento y almacenamiento, así como evitar el contacto con agentes catalíticos como el hierro y el cobre, ayudan a mantener la estabilidad de las vitaminas.

Con relación a las fuentes de calcio y fósforo, éstas presentan pocos problemas de calidad, excepto cuando el valor de fósforo es menor que el garantizado. En algunas ocasiones las fuentes de calcio y fósforo de origen mineral presentan niveles de flúor superiores a una parte de flúor por cada 100 partes de fósforo. Por otro lado, las fuentes de origen animal pueden estar contaminadas con salmonella.

ADITIVOS

Con relación al control de calidad de los aditivos, se realizan pruebas cualitativas que indican la presencia o ausencia del producto siguiendo los métodos del A.A.F.M. (American Association of Feed Microscopists, 1984); muchas veces estas pruebas rápidas indican que el aditivo no está presente, no siempre por la no adición del producto, sino debido a un mal mezclado.

ALIMENTO TERMINADO

Las variaciones en calidad del alimento terminado para uso de especies acuícolas, presenta las mismas variaciones que los alimentos para avicultura y ganadería. Un valor exacto en el contenido de nutrimentos garantizados por la casa comercial que elabora el alimento es muy difícil de obtener. Normalmente los valores que se obtienen en el laboratorio presentan una variación a ambos lados de la distribución normal, con una mayor tendencia a los valores inferiores del nivel mínimo que se garantiza.

Los nutrimentos que más varían son el contenido de proteína y de grasa, los cuales se reportan con un valor mínimo de garantía. La variación que existe entre la concentración calculada y el valor real analizado, puede estar afectado por numerosos factores como son los errores de muestreo, de mezclado, la inadecuada calibración de básculas y las pérdidas por almacenamiento.

En 1993, la Asociación Americana Oficial de Control de Alimentos presentó una lista de variaciones analíticas (Tabla 3) como guía de ayuda para los inspectores de control de calidad

para determinar la validez del análisis de garantía.

Tabla 3. Porcentaje de variación analítica en los ingredientes

Nutrimiento	Variación (%)
Humedad	12.00
Proteína	$(20/x + 2)$
Grasa	10.00
Fibra	$(30/x + 6)$
Fósforo	$(3/x + 8)$
Calcio	$(14/x + 6)$

En el caso de aminoácidos la variación no fue reportada, pero se estima entre un 20% y 30%. (Goodband et al. 1994).

FORMULACION DE LOS ALIMENTOS

Los problemas en la calidad de los alimentos acuícolas, por efecto de su formulación, son producto del desconocimiento del nutriólogo, tanto de los requerimientos nutricionales como de las restricciones mínimas o máximas que tiene cada nutrimento. De esta forma, las dietas pueden resultar mal balanceadas tanto por efecto de deficiencia como por exceso de algún nutrimento. Akiyama (1992) y Akiyama y Polanco (1995), presentan las restricciones nutricionales para la formulación a mínimo costo de los alimentos balanceados para algunas especies acuícolas (tablas 4,5,6 y 7).

Tabla 4. Restricciones nutricionales para la formulación de alimentos balanceados para camarones en cultivos semi-intensivos

Nutrimiento (%)	Mínimo	Máximo
Proteína	30.00	—
Grasa	6.00	—
Fibra	—	4.00
Metionina	0.72	—
Arginina	1.59	—
Lisina	1.59	—
Calcio	—	2.30
Fósforo disponible	0.60	—
Ca:P	—	1.5:1.0

Tabla 5. Restricciones nutricionales en la formulación de alimentos balanceados para salmónidos

Nutrimento (%)	Mínimo	Máximo
Proteína	40.00	—
Grasa	10.00	20.00
Fibra	—	5.00
Metionina + cistina	1.60	—
Arginina	2.40	—
Lisina	2.00	—
Calcio	—	1.50
Fósforo disponible	0.70	—
E. Metabolizable Mcal/kg	3.40	—

Tabla 6. Restricciones nutricionales en la formulación de alimentos balanceados para bagre de canal

Nutrimento (%)	Mínimo	Máximo
Proteína	32.00	—
Grasa	—	6.00
Fibra	—	7.00
Metionina + cistina	0.74	—
Metionina	0.30	—
Lisina	1.63	—
Calcio	—	1.50
Fósforo disponible	0.50	—
E. Digestible Kcal/kg	2618	—

Tabla 7. Restricciones nutricionales en la formulación de alimentos balanceados para carpa común.

Nutrimento (%)	Mínimo	Máximo
Proteína	30.00	—
Grasa	5.50	7.00
Fibra	—	6.00
Metionina + cistina	1.02	—
Metionina	0.72	—
Lisina	1.71	—
Treonina	1.17	—
Calcio	1.50	3.00
Fósforo disponible	0.90	—
E. Digestible Kcal/kg	2700	—

PROCESAMIENTO

El objetivo en la elaboración de alimentos es mezclar los diferentes tipos de nutrimentos en la forma más homogénea, para que el animal, en cada bocado que consuma, reciba la cantidad necesaria de esos nutrimentos y pueda alcanzar los máximos rendimientos productivos.

Los problemas más comunes que se presentan en la manufactura de alimentos para especies acuícolas y que afectan su calidad son:

1. Homogeneidad
2. Tamaño de partícula
3. Tamaño del pellet
4. Estabilidad en el agua
5. Capacidad de hundimiento o flotación
6. Factores misceláneos

HOMOGENEIDAD DE LA MEZCLA

En la mayoría de los animales domésticos la homogeneidad de la mezcla no es tan problemática, dado el tamaño del bocado y el consumo de alimento diario de los animales, sin embargo, en las especies acuícolas es uno de los principales problemas; por ejemplo, un camarón de 20 g de peso consume 0.8g de alimento/día; mientras que uno más pequeño (2g) consume alrededor de 0.25g, siendo requisito indispensable que en ambos casos consuma la ración que hemos balanceado de acuerdo con sus requerimientos. Esto significa que el grado de homogeneidad es un factor determinante para conseguir altos rendimientos. Este problema se agrava si consideramos que los alimentos acuícolas utilizan una gran cantidad de ingredientes y a niveles bajos de inclusión (tabla 8). Eisember y Eisember (1994), comentan que existen etiquetas de alimentos para peces o camarón, con tamaños entre 250 a 400 micrones, que tienen hasta 50 diferentes ingredientes. Cuando es una mezcla de muchos ingredientes, para poder obtener una buena homogeneidad del alimento, el tamaño de cada componente individual debe ser significativamente más pequeño que la unidad de tamaño del pellet, la migaja o del grano por sí mismo.

Tabla 8. Fórmula de alimento balanceado para camarones en un sistema semi-intensivo

Ingredientes	%
Harina de soya	25.00
Harina de pescado	15.00
Harina de cabeza de camarón	7.00
Harina de hígado de calamares	5.00
Harina de trigo	20.00
Harinilla de trigo	22.50
Lecitina de soya	0.50
Aceite de pescado	2.00
Premix vitaminas y minerales	0.25
Agente aglutinante	2.50
Antioxidantes	0.10
Inhibidor de hongos	0.10
Pigmentantes	0.05

La situación de homogeneidad es más complicada en el caso de los aditivos, pues en la mayoría de los casos la distribución de estos productos en el alimento no es muy uniforme. Por ejemplo, un alimento que utilice un nivel de 1% de aditivos, con una variación de + 10%, implica que cada unidad específica de alimento debe contener 100 partículas del aditivo; si un camarón de 20 g de peso consume 0.8 g/día y el alimento está procesado en forma de migajas (2 mm) que pesan aproximadamente 4 mg, para que exista una buena distribución cada partícula, el aditivo debe pesar 0.4 (g, lo que corresponde a 93 micrones y que se obtiene con una criba de 173 mesh.

La incorporación de estos aditivos nutricionales presenta un problema en la uniformidad de mezclado, no únicamente por la reducción en el tamaño de partícula, sino que muchas veces, por la molienda tan fina, se produce un daño al ingrediente antes de mezclarse.

En los sistemas de control de calidad existen procedimientos cualitativos rápidos para determinar la presencia o ausencia de vitaminas, minerales, antibióticos, etc.; muchas veces se realizan estas pruebas resultando negativas, no porque los nutrientes no se agregaron, sino porque la homogeneidad de la mezcla no fue la correcta. Por otro lado, a veces ocurren toxicidades por una mayor concentración del micro ingrediente en una parte del alimento.

2. TAMAÑO DE PARTICULA

Un problema serio en la elaboración de alimentos acuícolas es la obtención del tamaño óptimo de partícula. Los alimentos acuícolas comerciales presentan rangos de tamaño de partícula que varían de 50 a 2,500 micrones, en diversas presentaciones: en harina, en migaja o en forma de pellets. Para la obtención de este grado de molienda, se necesitan cribas entre 270 mesh hasta 8 mesh (Eisember y Eisember, 1994). Se recomienda moler los granos que se van a utilizar en alimentos acuícolas en molinos de martillo con cribas de 1.0 mm a 1.5 mm; cuando la mezcla de

alimento va a ser remolida la criba debe ser un poco más grande, por lo que se recomienda una de 2.8 mm. , así, el tamaño de partícula final debe estar en un rango entre 250 y 450 micrones.

Cuando un alimento no cuenta con un apropiado tamaño de partícula el parámetro que más se afecta es la conversión alimenticia; Sorencen y Phillips (1994), establecen que, en camarones, para obtener una conversión alimenticia óptima, el alimento debe tener un tamaño de partícula de 250 micrones (60 mesh), en un rango del 95%, y para camarones en varios estados de desarrollo, así como para larvas de peces, el tamaño debe ser menor a 177 micrones (80 mesh), también con una distribución del 95%; para peces grandes se requiere un tamaño de las partículas menor a 850 micrones equivalentes a 20 mesh, también con una distribución del 95%.

El tamaño de partícula también es importante para el proceso de peletizado y de extrusión, debido a que está limitado por el diámetro del dado de salida. En la actualidad existen dados tan pequeños, utilizados para alimentos de camarones, como de 2.2 mm de diámetro, en los cuales el tamaño de partícula puede ser de 177 micrones.

En la tabla 9 se presentan los tamaños de partícula para alimentos extruidos flotantes para peces (Rokey y Huber, 1994).

Tabla 9. Tamaño de partícula para alimentos extruidos flotantes para peces

Tamaño del pez (mm)	U.S. Criba No.	Máximo diámetro (mm)
Alevín	40	0.5
12-25	30	0.8
25-37	20	1.2
37-62	16	1.7
62-100	12	2.4
100-150	8	3.4
>>150	—	4.8

Desgraciadamente, cuando las partículas son demasiado finas se desarrollan fuerzas electrostáticas que hacen que estas partículas se adhieran a las paredes de la mezcladora, conductos y silos de almacenamiento; este problema se puede prevenir conectando eléctricamente el equipo a tierra.

TAMAÑO DEL PELLET

El tamaño del pellet es un factor especialmente importante en la alimentación de camarones y en los estados larvarios de los peces. Akiyama y Chwang (1993), establecen que el tamaño del

pellet para el camarón no está relacionado al tamaño de su boca, sin embargo, necesitan poder llevar partículas del alimento a su boca conforme se alimentan y frecuentemente nadan con el pellet; por lo tanto, el pellet debe ser suficientemente pequeño. Estos mismos autores recomiendan tres tamaños de alimento para camarones (Tabla 10); Dominy et al (1994), por su parte, establecen más categorías en el tamaño del alimento (Tabla 11).

Tabla 10. Tamaño del pelet en tres categorías de alimentación (Akiyama y Chwang, 1993)

Tamaño de camarón (g)	Tamaño del alimento
0-3	1 mm (migaja)
3-15	2 mm x 4 mm
15-40	2.5 mm x 5 mm

Tabla 11. Forma física y tamaño del alimento de camarón (Dominy et al, 1994)

Edad/tamaño	Forma física	Tamaño (mm)
Menor de PL 30	migaja	0.6-1.0
PL30-PL50	migaja	1.0-1.5
PL50-4g	migaja	1.5-2.5
4g a 10g	pelet	2.2-2.5 x 2.5
10g a 20 g	pelet	2.2-2.5 x 5.0
>> 20 g	pelet	2.2-2.5 x 10

Con relación a los tamaños para otras especies acuícolas, Bigliani (1993) recomienda tamaños entre 3/32" y 1/8". Alimentos para truchas, salmones y tilapias se presentan en pellets que van desde 3/32" hasta 1/4". Kearns (1993) recomienda que cuando se quieran procesar pellets con tamaños menores a 5/32" (3.96 mm), es más económico y conveniente fabricar pellets de 5/32" o de 3/16" y después reducirlos al tamaño de partícula deseado mediante rodillos corrugados y equipos de regulación de tamaño. En la tabla 12 se presenta el tamaño de pellet recomendado para tilapias en su estado juvenil y adulto (Jauncey y Ross, 1982).

Tabla 12. Tamaño de pelet recomendado para la alimentación de tilapia

Tamaño/Edad	Tamaño de partículas (diámetro)
-------------	---------------------------------

Primeras 24 horas	Alevines líquidos
2 día a 10 días	500/um
10 días a 30 días	500-1000/um
30 días a juveniles (0.5 a 1.0 g)	500-1500/um
1 g a 30 g	1-2mm
20 g a 120 g	2 mm
100 g a 250 g	3 mm
0 de 250 g	4 mm

4. ESTABILIDAD EN EL AGUA

La estabilidad del alimento en el agua, es decir, la resistencia del pellet a mantenerse unido en el agua, es un factor importante en la elaboración de alimentos acuícolas y es particularmente crítico para aquellas especies que consumen en el fondo de las lagunas. Los alimentos para camarones deben ser los más estables en el agua, pues ellos son consumidores lentos y continuos. El alimento necesita mantener su integridad en el agua, de manera que todo sea consumido; si el pellet no es estable, el alimento se desperdiciará, produciendo una mala conversión alimenticia y contaminando el agua (Akiyama y Chwang, 1993).

La tendencia mundial a producir alimentos a bajo costo, ha provocado que los fabricantes de alimentos acuícolas sustituyan los productos de origen animal, por grandes cantidades de proteínas de origen vegetal, lo que hace más difícil la estabilidad del pellet en el agua.

La mayor estabilidad de un alimento acuícola se da por medio del uso de agentes aglutinantes o ligantes. En el caso de alimentos extruídos, los aglutinantes no son usualmente necesarios, pero su adición ayuda a mejorar la estabilidad del pellet en el agua. El poder aglutinante de estos aditivos depende de su estructura y de sus propiedades adhesivas; existen diferentes tipos de agentes aglutinantes, que pueden clasificarse en naturales o sintéticos. Algunos de ellos son extractos de almidones de granos y tubérculos que por la acción del calor tienen propiedades gelatinizantes; otros productos naturales que se utilizan mucho en otras especies, pero que sus resultados en los alimentos acuícolas son muy variables, son los lignosulfatos y la carboximetil celulosa (Meyers, 1991). Un producto sintético que produce excelentes resultados, pero que no se encuentra fácilmente en el mercado, es el polimetilcarbamida (basfin). Existen otros productos, que son combinaciones de minerales, con propiedades adhesivas. En la tabla 13 se presenta una lista de los productos más utilizados en la elaboración de alimentos acuícolas (Dominy y Lim, 1993).

Tabla 13. Lista de agentes aglutinantes usados en alimentos acuícolas

Aglutinante	Nivel de Inclusión (%)
AB-200	2.00
D-537	2.00
Aquabid	4.00
AP-520	4.00
Aquafirm 1A	1.00
Grampo	5.00
Grampo plus	4.00
RE-9556	0.50
Nutri-binder	5.00
Nutriflex 40 Mega	0.25
Pel plus 100	3.00
Pel plus 250A	4.00

El promedio de estabilidad de los pelets en el agua debe ser aproximadamente de 4 horas; algunos alimentos acuícolas extruidos, sin aglutinantes, pueden durar hasta 12 horas y con aglutinantes hasta 24 horas (Rokey y Huber, 1994); sin embargo, la estabilidad óptima en el agua depende de la especie y del manejo del alimento. Akiyama y Chwang (1993), establecen que la liberación de los atractantes está relacionada con la estabilidad en el agua. Los atractantes deberán liberarse del alimento en el curso de 1 a 2 horas, si los atractantes ya no se encuentran presentes el alimento no será consumido; por lo tanto, los alimentos para camarón necesitan ser estables en el agua por un mínimo de 2.5 horas. Sin embargo, estos mismos autores concluyen que si el camarón es alimentado varias veces por día (6 o más) y en cada suministro todo el alimento es consumido en el curso de 30 minutos, la estabilidad requerida en el agua podrá ser de solamente una hora.

La estabilidad del pellet en el agua depende de cuatro factores que son:

1. Tamaño de partícula
2. Procesamiento
3. Utilización de agentes aglutinantes
4. Tipo de ingredientes

El tamaño de la partícula, entre más fino y homogéneo sea, más alta será la estabilidad del pellet pues la mezcla se compacta mejor. Bigliani (1993), recomienda una textura máxima de 420 a 250 micrones (40-60 mesh) para que los alimentos peletizados tengan una mejor estabilidad en el agua. El grado de homogeneidad es muy importante, pues si las partículas no son uniformes se producirán fracturas que permiten la entrada del agua, reduciendo así su estabilidad (Akiyama y Chwang, 1993).

La adición de humedad y calor en el acondicionador de la peletizadora o del extrusor, así como en el cilindro del extrusor, ayuda a desarrollar las propiedades aglutinantes naturales de los ingredientes (carbohidratos y proteínas), favoreciendo la dureza del pellet y su estabilidad

en el agua. Un acondicionamiento de más de 90 segundos es recomendable para que la humedad y el calor trabajen sobre el producto por peletizar y se obtenga un pellet de alta calidad. Generalmente se usa vapor saturado a baja presión (1.5 kg./cm), el cual debe ser lo más seco posible y debe entrar al acondicionador a una presión constante; la temperatura de la mezcla acondicionada, antes de entrar al dado, debe ser mayor de 90°C; la humedad a que entra el alimento en harina al acondicionador, debe variar entre 11% y 12%, y se le debe agregar entre 4% y 5.5% por vía de vapor, para que la mezcla acondicionada entre al dado con un valor de humedad entre 16 y 18%.

El problema que existe en la valoración de la estabilidad del pellet en el agua, es que su evaluación es subjetiva y está basada en la estructura o forma del pellet, que se debe mantener lo más intacta posible al ponerlo en una solución acuosa; otros métodos incluyen la pérdida de peso, o la cantidad de partículas disueltas observadas.

Los ingredientes que forman el alimento son de vital importancia para la estabilidad del pellet en el agua, el contenido de almidones es el factor más importante; el nivel de almidones varía desde un mínimo de 5% hasta un máximo de 60%. Los almidones en los alimentos acuícolas sirven como agentes aglutinantes, y como fuente de energía. Un alimento que se precipita al fondo, debe tener un mínimo de 10% de almidón; mientras que los alimentos que flotan deben contener un mínimo de 20% (Rokey y Huber, 1994). El trigo y sus subproductos son la fuente más común de almidones en alimentos acuícolas. Otros cereales como el maíz y el arroz, así como algunos tubérculos, tales como la papa y la yuca, son utilizados con diferentes grados de eficiencia.

En la formulación de una ración para especies acuícolas, es necesario conocer una clasificación de valores físicos que afectan la estabilidad del pellet y que están basados en los siguientes factores:

1. Factor de calidad del pellet
2. Factor de capacidad de prensado
3. Factor de abrasividad

En la tabla 14 se presentan los valores de factor de peletización de los ingredientes que se usan comúnmente en los alimentos acuícolas (Gill, 1993).

Tabla 14. Características de peletización de los ingredientes

Ingrediente	Calidad de pellet	Capacidad de prensado	Abrasividad
-------------	-------------------	-----------------------	-------------

Maíz molido	5	7	6
Sorgo molido	4	6	7
Arroz	5	5	4
Harina de trigo	8	6	3
Subproductos de trigo	5	5	4
Harina de soya	4	5	4
Soya integral	4	8	3
Harina de pescado	4	7	5
Harina de carne	5	7	3
Tancage	4	7	4
Harina de yuca	5	3	7
Minerales	2	4	10
Melaza	7	10	0
Semolina de arroz	2	3	9

Valores de 0 a 10 unidades

Cantidades excesivas, superiores al 2%, de grasa suplementaria en el alimento en harina afecta la durabilidad y estabilidad final del pellet; ingredientes altos en fibra causan problemas en la tasa de producción.

CAPACIDAD DE HUNDIMIENTO Y FLOTACION

Una característica muy importante para la elaboración de alimentos acuícolas es su capacidad de hundimiento y de flotación pues, dependiendo de la especie a la que se le suministre, afectará los rendimientos productivos de los animales. Existen tres tipos generales de alimentos relacionados a esta capacidad:

1. Alimentos flotantes
2. Alimentos sumergibles
3. Alimentos de hundimiento lento

ALIMENTOS FLOTANTES

Los alimentos flotantes se utilizan en la alimentación de peces, por ejemplo de las tilapias; estos alimentos normalmente contienen una densidad en el orden de los 320 a 400 g/litro, son pellets expandidos cuyo diámetro varía entre 1.5 y 10 mm. Según Kearns (1993), los alimentos flotantes típicos se procesan por extrusión con un nivel de humedad entre 24 y 27%, los cuales al salir del dado se expanden de 125% a 150% del tamaño original.

ALIMENTOS SUMERGIBLES

Los alimentos sumergibles se utilizan principalmente en la alimentación de camarones o en

aquellas especies de alimentación lenta que habitan en el fondo del agua. Tienen una densidad en el orden de 400 a 550 g/litro (Rokey y Huber, 1994); el diámetro del pelet recomendado varía de 1.4 a 4 mm (Kearns, 1993); y una característica importante de estos alimentos es que no se deben disgregar antes de 2 a 4 horas para que puedan consumirse adecuadamente.

ALIMENTO DE HUNDIMIENTO LENTO

Estos alimentos se utilizan en la industria de la cría del salmón en estanques flotantes en el océano donde se usan redes en el fondo (Kearns, 1993). La densidad de estos alimentos es de 390 a 410 g/litro, que es el margen que permite a los alimentos hundirse en agua salada. Es muy importante medir la densidad de cada pellet, con el fin de que se hunda lentamente.

6. FACTORES MISCELANEOS

Existen otros factores que pueden afectar la calidad del alimento y, como consecuencia, los rendimientos productivos de los animales. Estos factores son:

- a) Cantidad de finos
- b) Tiempo de almacenamiento
- c) Atractabilidad y palatabilidad
- d) Apariencia

a) CANTIDAD DE FINOS

Entre más finos se presenten en un alimento, más desperdicio se produce y ocurre una mayor contaminación del agua ya que estos productos se pudren en el fondo de las lagunas. Los alimentos peletizados, por lo general producen de 5% a 8% de finos durante su manejo, ya sea a granel o en sacos; mientras que los alimentos extruídos producen de 1% a 2% de finos (Kearns, 1993). La presencia o ausencia de finos depende del procesamiento del alimento y de los factores que afectan la producción de un pellet de alta calidad.

b) TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

El tiempo de almacenamiento afecta la calidad del alimento y está influenciado por el nivel de humedad, tanto del producto como del medio ambiente; normalmente, la mayoría de productos se procesan con un 10% a 12% de humedad, lo cual permite almacenarlos sin problemas; en condiciones tropicales, donde las temperaturas sobrepasan a los 30oC y las humedades relativas son mayores del 90%, es mejor no almacenar alimentos por más de una semana, tiempos mayores predisponen al alimento a desarrollo de hongos, con la subsecuente producción de micotoxinas, bacterias y aminos biogénicas, así como la destrucción de nutrimentos por evaporación o efectos de oxidación.

c) ATRACTABILIDAD Y PALATABILIDAD

La atractabilidad y la palatabilidad de un alimento son críticas en la elaboración de alimentos

acuícolas, especialmente en los alimentos de camarón; de nada vale tener un alimento perfectamente balanceado si el animal no lo consume. Akiyama y Chwang (1993) establecen que cuando el camarón es alimentado, los atrayentes, que son aminoácidos y que se liberan del alimento peletizado, son detectados por el camarón por medio de quimo-receptores distribuidos a lo largo de todo el cuerpo; por lo tanto el camarón se alimenta por el olor y no por la vista.

Akiyama y Chwang (1993) recomiendan, para determinar la atractabilidad y palatabilidad de un alimento, observar en un acuario o cubeta cómo son alimentados los camarones; en el transcurso de 2 minutos, posteriores a que el alimento fue suministrado, el camarón se volverá muy activo y buscará el alimento, si el camarón no responde al alimento, éste no es atrayente y no deberá ser usado, después de 30 minutos el tubo digestivo del camarón deberá estar lleno. Cuando a los camarones se les observa acariciando el pellet, pero posteriormente lo desechan, quiere decir que es atrayente pero no palatable. Entre los principales atrayentes están las harinas de productos marinos y sus aceites. En la tabla 15 se presenta una lista de los principales compuestos reportados como atrayentes para crustáceos (Costero y Meyers, 1993). Estos compuestos son encontrados como metabolitos de tejidos.

Tabla 15. Compuestos atrayentes para crustáceos

Aminoácidos específicos: Homarina, prolina, taurina
Mezclas de aminoácidos
Compuestos cuaternarios de amonio: Betainas, glicina-betaina, prolina-betaina
Nucleósidos/nucleótidos: ATP, ADP, AMP
Acidos orgánicos

d) APARIENCIA

La apariencia física del alimento es importante aún cuando los animales no coman por el color, sino más bien por el olor (camarones), sin embargo, un color no uniforme indica que hubo problemas en el mezclado de los ingredientes. Un color muy oscuro en el alimento, puede ser la señal de que esté sobre cocinado y, por lo tanto, que la disponibilidad de los nutrimentos como vitaminas y aminoácidos se ve afectada. También es necesario que el alimento contenga un nivel bajo de finos.

CONCLUSIONES

El control de calidad en la manufactura y manejo de alimentos balanceados es de fundamental importancia para lograr el máximo rendimiento en los cultivos acuícolas; el desarrollo de normas de calidad y métodos de prueba para determinar los parámetros óptimos, es un proceso continuo en el cual nos encontramos involucrados todos los sectores de la industria: productores, investigadores, fabricantes de alimentos, proveedores de materias primas, de equipo, etc. La acuicultura es una industria en crecimiento y con gran potencial; en nuestras manos está crecer sin cometer los errores que se han visto en otras industrias de producción animal. En esta revisión pretendemos hacer énfasis en algunos de los puntos críticos, en el control de calidad de

los alimentos balanceados, para obtener el máximo potencial de las diferentes especies acuícolas.

BIBLIOGRAFIA

- A. A. F. M. American Association of Feed Microscopists. 1984. Manual de análisis de alimentos para animales. 1er ed. Español. México. 165p.
- Akiyama, D. 1988. Soybean meal utilization by marine Shrimp. In Proc. of AOCS World Congress on Vegetable Protein Utilization in Human Foods and Animal Feedstuffs. Singapore. October 2-7, 1988. 29p.
- Akiyama, D. 1992. Utilización de la pasta de soya en los alimentos acuícolas. ASA/México A.N. No. 108 1a reimpresión. 20p.
- Akiyama, D y N. Chwang. 1993. Requerimientos nutricionales del camarón y manejo del alimento. En Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. p. 479-491.
- Akiyama, D. y B. Polanco. 1995. Manejo de granjas en cultivo semi-intensivo de camarones. Manual Técnico. Asociación Americana de soya. Venezuela. 30p.
- Bigliani J.R. 1993. El proceso de la peletización para la producción de alimentos para la acuicultura. En Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. p. 393-414.
- Costero, M y S. Meyers. 1993. Consideraciones sobre atrayentes químicos y estimulantes de la alimentación del camarón de cultivo *Penaeus vannamei*. En Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. p. 355-364.
- Eisenberg, S and D. Eisenberg. 1994. Particle size and mixing problems for aquatic feeds. In: Feed Manufacturing Technology IV. Chapter 56: 498-499.
- Dominy, W. y C. Lim. 1993. Rol de los ligantes en el alimento peletizado para camarones. En Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. p. 365-382.
- Dominy, W., Dean. Akiyama and W. Bewley. 1994. The pelleting process for shrimps feeds. In:

Feed Manufacturing Technology IV. Chapter 59: 505-508.

- Gil, C. 1993. Chemistry for high quality feeds. *Feed International* March. 10-11.
- Goodband, R.D., M.D. Tokach and J. L. Nelssen. 1994. *Kansas Swine Nutrition Guide*. Cooperative Extension Service. Kansas State University. C-719. 41p.
- Jauncey, K., and B. Ross. 1982. *A guide to tilapia feeds and feeding*. Institute of Aquaculture. University of Stirling, Scotland. 111p.
- Kearns, J. 1993. Método Wenger para la extrusión de alimentos acuícolas. En Cruz-Suárez L. E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. *Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas*. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. p. 431-464.
- Lawrence, A.L., F.L. Castillo, L.N. Sturmer y Dean Akiyama. 1986. Respuesta nutricional de los camarones marinos a diferentes niveles de harina de soya integral en alimentos balanceados. En *Conferencia de Negocios Conjuntos del X Aniversario del Consejo Económico del USA-ROC-USA*, Taipei, Taiwan. 18p.
- Lim, C, and W. Dominy. 1989. Utilization of plant proteins by warmwater fish. *ASA Technical Bull.* Vol. 3 AQ 15. Singapore. 12p.
- Lim, C, and W. Dominy. 1990. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*, 87:53-63.
- Lowell, R.T. 1984. Use of soybean products in diets for aquaculture species. *ASA Animal Nutrition Research Highlines*. Special Edition. 6p.
- Meyers, S. 1991. Pellet binders for shrimp feeds. *Feed International*. March. 22-32.
- Okeefe, T., and B. Grant. 1991. Stable forms of vitamin C. Essentiality, stability and bioavailability. *ASA Technical Bull.* Vol AQ 29. Singapore. 12p.
- Rokey and G. Huber. 1994. Extrusion processing of aquaculture feeds. In: *Feed Manufacturing Technology IV*. Chapter 60: 509-515.
- Sorencen, and D. Phillips. 1984. Particle size and mixing statistics. In: *Feed Manufacturing Technology IV*. Chapter 57: 500-502.