

Programa de Estudios de Posgrado

**APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS
MARINOS PARA LA ALIMENTACIÓN
DE CAMARÓN DE CULTIVO
Y GALLINAS PONEDORAS.**

TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Acuicultura)

Presenta

Eduardo Alberto Toyes Vargas

La Paz, Baja California Sur, Septiembre de 2016.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12 horas del día 17 del Mes de Junio del 2016, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Aprovechamiento de subproductos marinos para la alimentación de camarón de cultivo y gallinas ponedoras"

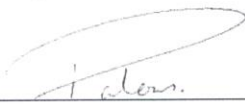

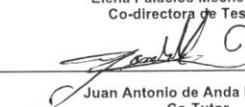
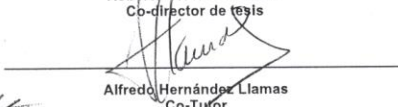

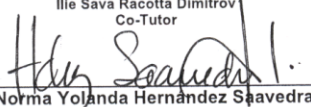
Presentada por el alumno:

Eduardo Alberto Toyas Vargas

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Acuicultura

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

 Elena Palacios Mechetnov Co-directora de Tesis	 Roberto Civera Cerecedo Co-director de tesis
 Juan Antonio de Anda Montañez Co-Tutor	 Alfredo Hernández Llamas Co-Tutor
 Ilie Sava Racotta Dimitrov Co-Tutor	
 Dra. Norma Yolanda Hernández Sampedra, Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos	

COMITÉ TUTORIAL

Dra. Elena Palacios Mechetnov	Co-Director	CIBNOR, S. C.
Dr. Roberto Civera Cerecedo	Co-Director	CIBNOR, S. C.
Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov	Co-Tutor	CIBNOR, S. C.
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez	Co-Tutor	CIBNOR, S. C.
Dr. Alfredo Hernández Llamas	Co-Tutor	CIBNOR, S. C.

COMITÉ REVISOR

Dra. Elena Palacios Mechetnov
Dr. Roberto Civera Cerecedo
Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez
Dr. Alfredo Hernández Llamas

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dra. Elena Palacios Mechetnov
Dr. Roberto Civera Cerecedo
Dr. Ilie Sava Racotta Dimitrov
Dr. Juan Antonio de Anda Montañez
Dr. Alfredo Hernández Llamas

Suplentes

Dra. Lía Mendez Rodríguez	CIBNOR, S.C.
Dr. Pedro Cruz Hernández	CIBNOR, S. C.

RESUMEN

Los subproductos de pesquerías y acuicultura (i.e. vísceras, cabezas, piel, etc.) se consideran de bajo valor económico y se eliminan en la forma más barata o conveniente, tirándolos al mar, a cielo abierto o enterrándolos, aunque en algunos casos (desechos de pescado principalmente) pueden llegar a utilizarse para producir harina. Los subproductos pueden representar hasta el 60% de la producción total, y su adecuado aprovechamiento puede generar nuevos productos alimenticios, así como fuentes de empleo, más ingresos y beneficios ambientales. Los subproductos de origen marino poseen nutrientes esenciales como aminoácidos y ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), y pueden ser usados para la obtención de ingredientes de alta calidad nutricia en alimentos para acuicultura, e incluso, para mejorar la composición química de los productos para consumo humano.

En el presente trabajo, se colectaron una variedad de subproductos marinos de Baja California Sur, tales como vísceras de calamar (*Dosidicus gigas*), vísceras de hacha (*Pinna rugosa*), cabezas de camarón (*Farfantepenaeus californiensis*) y macarela entera (*Scomber japonicus*), mismos que fueron usados para la elaboración de harinas mediante dos procesos: cocción-secado y molienda-secado. El efecto de la cocción no fue similar para todas las materias primas, ni para todas las variables evaluadas, observándose efectos negativos en el contenido de fosfolípidos, HUFA y carotenoides. La materia prima más afectada por la cocción fue la de las vísceras de hacha, observándose una disminución marcada de la concentración de HUFA.

Para determinar el efecto de la sustitución de la harina de pescado en el alimento de camarón con las harinas elaboradas, sobre los parámetros de producción y la composición química del músculo de camarón, se llevó a cabo un bioensayo de crecimiento con juveniles de *Litopenaeus vannamei*. Se evaluaron 8 alimentos: un alimento Control (con harina de sardina), 6 alimentos donde las harinas de vísceras de calamar y hacha, y de macarela entera sustituyeron totalmente a la harina de sardina en el alimento, y un alimento comercial. La supervivencia fue de 100% con los diversos tratamientos, excepto con el alimento comercial, donde fue de 70%. El crecimiento en peso de los camarones alimentados con los alimentos que contenían los subproductos marinos fue significativamente mayor al de los alimentados con alimento Control o comercial, lo cual fue aún más acentuado en el caso del alimento producido con harina de vísceras de calamar cocidas. La inclusión de las harinas cocidas en el alimento redujo el factor de conversión alimenticia entre 18 y 28% en comparación con las harinas secadas. También se observó una mayor concentración de HUFA en el músculo de camarones que consumieron alimento con harina de vísceras de calamar, y más aun cuando la harina fue elaborada por cocción.

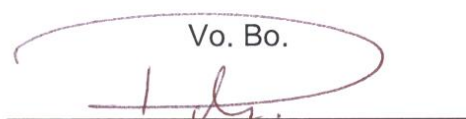
Se determinó la digestibilidad aparente *in vivo* de las harinas de los subproductos en juveniles de camarón, observándose que las harinas de macarela

mostraron los Coeficientes de Utilización Digestiva Aparente (CUDA) de materia seca más elevados (86-89%). La digestibilidad de proteína de las harinas de hacha fue cercana a 82% y la de lípidos varió de 64 a 72%, siendo inferiores a los CUDA obtenidos con el resto de las harinas, tanto para proteína, como para lípidos. Las harinas de calamar presentaron los CUDA más altos de ácido araquidónico (~94%), mientras que los CUDA de ácido eicosapentaenoico y docosahexaenoico fueron superiores al 93% en todas las harinas.

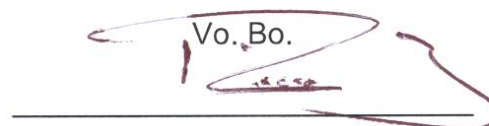
Por otra parte, para determinar el efecto de la inclusión de las harinas de subproductos marinos como aditivos en el alimento de gallina, sobre la producción de huevo y el contenido de ácidos grasos, colesterol y carotenoides en la yema, se realizó un experimento con gallinas ponedoras de raza Bovans White, donde se evaluaron 9 alimentos: un Control (sin harina, ni aceite de pescado, añadidos) y 8 alimentos conteniendo las harinas de vísceras de hacha y calamar, de macarela y de cabezas de camarón, a un nivel de inclusión de 5% en el alimento. La postura fluctuó de 84 a 97%, la producción de huevo de 0.54 a 0.63 kg/día, el consumo de alimento de 88 a 106 g/día y el factor de conversión alimenticia de 2.39 a 2.88, sin que se detectaran diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al tamaño y peso de los huevos, composición de esteroides, ni composición proximal, en comparación al Control. Se obtuvieron mayores niveles de HUFA, particularmente de lípidos polares, al utilizar las harinas de vísceras de hacha y calamar, así como mayor acumulación de astaxantina en yema al utilizar las harinas de subproductos, especialmente con la de harina de cabezas de camarón cocidas, que superó de 2 a 4 veces al resto de las harinas.

De manera general, se concluye que la inclusión de harinas de subproductos marinos en el alimento para camarón mejora el crecimiento y la utilización del alimento, así como la calidad del músculo de camarón para consumo humano. Asimismo, la inclusión de las harinas de subproductos marinos en alimento para gallina, independientemente del proceso de fabricación de las harinas, no afecta las características sensoriales del huevo cocido y en cambio mejora la calidad nutricional del huevo para consumo humano.

Palabras clave: subproductos marinos; tratamiento térmico; ingredientes acuícolas; composición química; camaronicultura; avicultura; huevo enriquecido.

Vo. Bo.


Dra. Elena Palacios Mechetnov

Vo. Bo.


Dr. Roberto Civera Cerecedo

ABSTRACT

Fisheries and aquaculture by-products (i.e. guts, heads, skin, etc.) are considered as low economic value and are eliminated in the cheaper or convenient way, throwing them back into the sea, discarded into piles in the open, buried in landfills, and in the case of fish, used to produce fish meal. By-products can represent up to 60% of total production and its proper use can create new foodstuffs, as well as, employment sources, more income and environmental benefits. Marine by-products possess essential nutrients such as amino acids and highly unsaturated fatty acids (HUFA), and can be used to obtain high quality nutritional ingredients for aquaculture feeds, and even to improve the chemical composition of products for human consumption..

In the present work, a variety of marine by-products from Baja California Sur, such as squid viscera (*Dosidicus gigas*), scallop viscera (*Pinna rugosa*), shrimp heads (*Farfantepenaeus californiensis*) and whole mackerel (*Scomber japonicus*) were collected, and were used to produce meals by two processes: cooking-drying and grinding-drying. The effect of cooking was not similar for all raw materials, neither for all evaluated variables; adverse effects were observed in phospholipids, HUFA and carotenoids content. The raw material most affected by cooking was scallop viscera, showing a marked decrease in HUFA concentration.

To determine the effect of replacing fish meal in shrimp feed with the prepared meals on production parameters and chemical composition of shrimp muscle, a growth bioassay with juvenile *L. vannamei* was carried out. Eight feeds were evaluated: a Control diet (containing sardine meal), six feeds where the meals from squid and scallop viscera, and whole mackerel totally replaced sardine meal in the diet, and a commercial diet. Survival was 100% in all experimental treatments, except for the commercial feed, which resulted in 70%. Growth of shrimps fed diets containing marine by-products was significantly higher than those fed the Control or the commercial diets, being even more pronounced in shrimp fed the diet containing cooked squid viscera meal. Inclusion of cooked meals in feeds reduced feed conversion ratios between 18 and 28% compared to dried meals. There was a higher HUFA content in muscle of shrimp that consumed feed containing squid viscera meals, and even more when the meal was prepared by cooking.

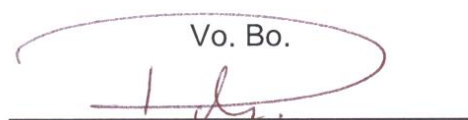
In vivo apparent digestibility of by-product meals in juvenile shrimps was also determined. Mackerel meals showed the highest apparent digestibility coefficients (ADC) for dry matter (86-89%). The protein digestibility of scallop meals was close to 82% and for lipids varied from 64 to 72%, being lower to ADC obtained with the other meals. Squid viscera meals presented the highest ARA ADC (~94%), while ADC of EPA and DHA were higher than 93% in all the meals.

On the other hand, to determine the effect of including marine by-product meals as additives in laying hens feed, on egg production and fatty acids, cholesterol and carotenoids content in yolk, an experiment was performed with Bovans White hens. Nine diets were evaluated: a Control diet (without fish meal or fish oil) and eight diets

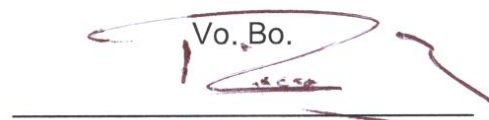
containing scallop and squid viscera, shrimp heads and mackerel meals, at a dietary inclusion level of 5%. Laying ranged from 84 to 97%, egg production from 0.54 to 0.63 kg per day, feed intake from 88 to 106 g per day, and feed conversion from 2.39 to 2.88. However, no significant differences among treatments on eggs size and weight, yolk sterols or proximal composition of whole egg, compared to the Control, were detected. Higher HUFA levels in yolk, particularly in polar lipids, were obtained using squid and scallop viscera meals, and greater accumulation of astaxanthin in yolk using by-product meals were observed, especially with cooked shrimp heads meal, which exceeded by 2 to 4 times the contents obtained with the other meals.

In general, it is concluded that the inclusion of marine by-products meals in shrimp feed improves growth and feed utilization, as well as muscle quality for human consumption. Likewise, the inclusion of marine by-products meals in hen feed, regardless of the meal manufacturing process, does not affect the sensory characteristics of boiled egg, and instead improves the nutritional quality of eggs for human consumption

Keywords: marine by-products; heat treatment; aquaculture ingredients; chemical composition; n-3 fatty acids; shrimp culture; poultry; enriched egg.

Vo. Bo.


Dra. Elena Palacios Mechetnov

Vo. Bo.


Dr. Roberto Civera Cerecedo

DEDICATORIA

A Melissa y Camila, por todo el amor

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por otorgarme la beca de posgrado No. 224253 que permitió tener las condiciones de vida adecuadas para enfocarme en este trabajo.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, por permitirme acceder a una educación superior, y por brindar las instalaciones y el personal capacitado para desarrollar este trabajo de investigación.

A mis directores, Dra. Elena Palacios Mechetnov y Dr. Roberto Civera Cerecedo, por invertir su tiempo y energías en mi formación académica y científica, por llevarme a áreas del conocimientos donde nunca imaginé ir, y por acompañarme a algunas nuevas para ustedes.

A mis tutores, Dr. Ilie Racotta, Dr. Juan Antonio de Anda y Dr. Alfredo Hernández, por sus importantes contribuciones a esta tesis y por insitarme a ver la ciencia desde múltiples enfoques.

A las técnicas Biol. Sandra de La Paz Reyes y M. en C. Maria Olivia Arjona López, por su intensa participación a lo largo de todo el trabajo. Es fácil trabajar cuando todos esta disponible y listo para usarse cuando y donde se necesita.

Al equipo de trabajo que apoyó durante el desarrollo de los experimentos: M. en C. Bryan Licon, Biol. Monica Cabrera, Dr. Ranferi Gutierrez, M. en C. Celene Navarro, M. en C. Asahel Benitez, M. en C. Yazmin Sánchez, Dr. Rodolfo Garza, C. Nannie Esperanza y M.V.Z. Salvador Reyes. Asi como a los que apoyaron en los análisis en laboratorio: Dra. Arlett Robles y B.M. Jazmín Duran.

A los investigadores y técnicos de los laboratorios involucrados en el desarrollo del presente trabajo: IBQ. Dolores Rondero, Geol. Sindy Juan e IBQ. Sonia Rocha de Analisis Quimico Proximal; Dr. Ernesto Goytortúa de Nutrición Acuícola Experimental; Dra. Lía Mendez Rodríguez, M. en C. Baudilio Acosta e IBQ. Griselda Peña de Espectrofotometría de Absorción Atómica; M. en C. Roberto Hernández de Bioquímica Fisiológica; Dra. Bertha Arredondo y Dra. Laura Carreón de Biotecnología de Microalgas; M. en C. Norma Ochoa de Diagnóstico Microbiológico; Ing. Alfonso Alvarez del Taller de Maquinados

Al personal de Posgrado: Lic. Osvelia Ibarra, C. Tania Nuñez, Lic. Claudia Olachea, Lic. Leticia Gonzalez, Lic. Manuel Melero, C. Lupita Sánchez, Dra. Norma Hernández y Dra. Elisa Serviere, por hacer ese trabajo del que los estudiantes no

nos damos cuenta, pero es vital durante nuestra estadia en el centro. Mención especial para el Lic. Horacio Sandoval, por ser rápida y segura solución a diversas dudas y problemas.

A mis grandes amigos que están cerca: Rosy, Bryan, Milton, Noé, David, Matus, Damien; y a los que están lejos: Natalia, Fito, Coy, Toño, Pindaro, Karlita, Sergio.

Al CIBNOR FC, Tocheros y Taiseros, por tantos buenos ratos.

A Rossy, por ser familia sin estar obligada, nos harás falta cuando estés lejos.

Al Sr. Marco Antonio Fragoso, por tanto apoyo todos estos años.

A mis hermanos, Alonso y Marysol, a quienes amo y admiro profundamente por las maravillosas personas que son.

A mis padres, Maricela y Felipe, por hacerme sentir que puedo hacer cualquier cosa que me proponga.

A mi esposa, Melissa, por acompañarme a cada paso, sin ti no lo hubiera logrado.

A mi hija, Mailen Camila, por entregarme pequeñas maravillas todos los días.

PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

Artículos científicos

- Changes in fatty acids, sterols, pigments, lipid classes, and heavy metals of cooked or dried meals, compared to fresh marine byproducts. Eduardo Toyas-Vargas, Arlett Robles-Romo, Lía Méndez, Elena Palacios, and Roberto Civera. *Animal Feed Science and Technology* (Aceptado).
- Marine co-product meals as a substitute of fish meal in diets for white shrimp *Litopenaeus vannamei* improve growth, feed intake, and muscle HUFA composition. Eduardo Toyas-Vargas, Ana María Calderón-de la Barca, Yazmin Duran-Encinas, Elena Palacios, and Roberto Civera. *Aquaculture Research* (Sometido).
- Effect of feeding hens marine by-product meals on production parameters, yolk lipid composition and sensory quality of eggs. Eduardo Toyas-Vargas, Ricardo Ortega-Perez, Jose Luis Espinoza-Villavicencio, Elena Palacios, and Roberto Civera. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (Sometido).

Presentación en congreso

- Use of marine by-product meals for replacement of fishmeal in feed for shrimp *Litopenaeus vannamei*. Eduardo Toyas-Vargas, Elena Palacios and Roberto Civera. *Aquaculture America 2014*, February 9-12, Seattle, Washington.

Solicitud de Patente

- Sometida ante el IMPI titulada "CAMARÓN CON BAJO CONTENIDO DE COLESTEROL Y MÉTODO DE OBTENCIÓN DEL MISMO", por Palacios, E., Civera, R., Toyas, E., Navarro, C., Arjona, O., Reyes, A., Racotta, I., Beltrán, A., Goytortúa, E. con número de expediente: MX/a/2016/008683, folio de recepción MX/E/2016/045568, el día 30 de junio del 2016 a las 10:15:39.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iv
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN.....	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Harina y aceite de pescado	3
2.2 Efectos del proceso de producción sobre la composición bioquímica de la harina	7
2.3 Sustitutos de la harina de pescado en alimentos acuícolas	10
2.4 Aceite de pescado en alimentos acuícolas.....	14
2.5 Subproductos de pesca y acuicultura	22
2.6 Modificación de la composición del músculo de camarón por medio del alimento.....	30
2.7 Modificación de la composición del huevo de gallina por medio del alimento	31
3. JUSTIFICACIÓN	36
4. HIPÓTESIS	37
5. OBJETIVOS.....	38
5.1 Objetivo general	38
5.2 Objetivos específicos.....	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
6.1 Objetivo particular 1. Preparación y análisis bioquímico de harinas experimentales con o sin cocción.....	39
6.1.1 Obtención de materias primas.....	39
6.1.2 Procesamiento de las materias primas	39
6.1.3 Análisis bioquímicos.....	42
6.1.4 Análisis estadístico	47
6.2 Objetivo particular 2. Sustitución de la harina de pescado en alimentos para camarón.....	47
6.2.1 Organismos y sistema de cultivo	47
6.2.2 Formulación y fabricación de alimentos.....	48
6.2.3 Diseño experimental.....	50
6.2.4 Criterios de evaluación	55

6.2.5	Análisis de muestras	56
6.2.6	Análisis estadístico	58
6.3	Objetivo particular 3. Inclusión de harinas de subproductos en alimentos para gallina	60
6.3.1	Aves en producción	60
6.3.2	Fabricación de alimentos.....	60
6.3.3	Diseño experimental y condiciones de producción	61
6.3.4	Criterios de evaluación	63
6.3.5	Toma de muestras para análisis bioquímicos.....	65
6.3.6	Análisis estadístico	65
7.	RESULTADOS.....	66
7.1	Objetivo particular 1. Composición bioquímica de harinas procesadas	
7.1.1	<i>Químico proximal</i>	66
7.1.2	<i>Lípidos totales</i>	69
7.1.3	<i>Clases de lípidos</i>	69
7.1.4	<i>Esteroles</i>	72
7.1.5	<i>Ácidos grasos</i>	74
7.1.6	<i>Carotenoides</i>	77
7.1.7	<i>Metales pesados</i>	79
7.1.8	<i>Productos de oxidación de lípidos</i>	81
7.1.9	<i>Aminoácidos</i>	82
7.2	Objetivo particular 2. Sustitución de la harina de pescado en alimentos para camarón.....	84
7.2.1	<i>Composición de los alimentos</i>	84
7.2.2	<i>Parámetros zootécnicos y utilización del alimento</i>	89
7.2.3	<i>Composición de hepatopáncreas y músculo</i>	91
7.2.3	<i>Ácidos grasos en músculo</i>	93
7.2.4	<i>Esteroles en músculo</i>	95
7.2.5	<i>Análisis microbiológico</i>	95
7.2.6	<i>Coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDA)</i>	97
7.3	Objetivo particular 3. Inclusión de harinas de subproductos en alimentos para gallina	101

7.3.1 Composición de los alimentos.....	101
7.3.2 Parámetros productivos y características del huevo	106
7.3.3 Composición del huevo.....	108
7.3.4 Evaluación sensorial	115
8. DISCUSIÓN	118
8.1 Composición de subproductos frescos y métodos de análisis.....	118
8.2 Composición de harinas y procesos de producción.	124
8.3 Desempeño zootécnico de camarones alimentados con alimentos que contienen harinas de subproductos.	131
8.4 Efecto de alimentos conteniendo harinas de subproductos sobre la composición química de camarones.	138
8.5 Producción de huevo por gallinas alimentadas con subproductos.	143
9. CONCLUSIONES	152
10. LITERATURA CITADA.....	153
11. ANEXOS	180
Contenido de lípidos en muestras de origen marino analizadas por dos métodos.....	175
Composición de ingrediente fabricados a partir de subproductos.....	177
Cartel presentado en el congreso Aquaculture America 2014.....	184

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción mundial de la pesca y la acuicultura.....	4
Figura 2. Tendencias en los precios de harina de pescado, aceite de pescado y camarón en venta al por mayor.....	5
Figura 3. Esquema de producción de harina y aceite a partir de materias primas de origen marino	7
Figura 4. Hidrólisis de triglicéridos.....	8
Figura 5. Síntesis de HUFA a partir de PUFA	17
Figura 6. Síntesis de colesterol a partir de fitoesteroles.....	21
Figura 7. Valor agregado a partir de subproductos marinos.....	23
Figura 8. Captura de hacha en Baja California Sur.	26
Figura 9. Captura de calamar gigante en Baja California Sur.	26
Figura 10. Producción por cultivo y captura de camarón en Baja California Sur..	27
Figura 11. Consumo anual <i>per capita</i> de huevo en México	32
Figura 12. Materias primas utilizadas.....	40
Figura 13. Procesamiento de materias primas	41
Figura 14. Extruido y cortado de pellets para el bioensayo de crecimiento.....	50
Figura 15. Monitoreo de temperatura y oxígeno disuelto en los acuarios.	53
Figura 16. Colecta de heces de camarón y apariencia de heces con óxido crómico.	54
Figura 17. Unidad experimental en granja avícola de la UABCS.	62
Figura 18. Evaluación de características sensoriales de huevo cocido.....	64
Figura 19. Valoración de color de yema en huevo crudo con abanico de colores.	64
Figura 20. Color de yema en huevo crudo.	115
Figura 21. Color de huevo cocido.....	116
Figura 22. Olor de huevo cocido.	116
Figura 23. Sabor de huevo cocido.....	117
Figura 24. Consistencia de huevo cocido.....	117

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Fuentes de proteína alternas a la harina de pescado en alimentos para acuicultura.....	11
Tabla II. Composición de aminoácidos de harinas utilizadas en la alimentación de camarones.	12
Tabla III. Niveles de PUFA y HUFA de distintas fuentes de lípidos utilizadas en alimentos acuícolas.....	14
Tabla IV. Composición de ácidos grasos de camarones alimentados con diferentes fuentes de lípidos.....	16
Tabla V. Contenido de esteroides en distintas fuentes de lípidos (% del total de esteroides).	20
Tabla VI. Lípidos totales y HUFA en diferentes subproductos de origen marino..	27
Tabla VII. Colesterol y otros esteroides en subproductos de origen marino.....	28
Tabla VIII. Proteína cruda y aminoácidos en diferentes subproductos de origen marino.....	29
Tabla IX. Composición en ingredientes de los alimentos elaborados para el bioensayo de crecimiento con camarones.....	52
Tabla X. Composición de ingredientes de alimento control UABCS para gallina.	61
Tabla XI. Composición proximal y energía bruta en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.	67
Tabla XII. Clases de lípidos en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	71
Tabla XIII. Esteroides en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	73
Tabla XIV. Ácidos grasos en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	75
Tabla XV. Carotenoides en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	78
Tabla XVI. Metales pesados en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	80
Tabla XVII. Productos de oxidación en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.....	82
Tabla XVIII. Aminoácidos en harinas de subproductos marinos secado o cocidos.	83
Tabla XIX. Composición proximal de alimentos control, comercial y experimentales para camarón.....	86
Tabla XX. Ácidos grasos en alimentos control, comercial y experimentales para camarón.....	87
Tabla XXI. Esteroides en alimentos control, comercial y experimentales para camarón.....	88
Tabla XXII. Parámetros zootécnicos y de utilización de los alimentos evaluados en el bioensayo de crecimiento con camarón blanco.....	90
Tabla XXIII. Composición bioquímica de hepatopáncreas y músculos de camarones del bioensayo de crecimiento.....	92

Tabla XXIV. Ácidos grasos en músculo de camarones del bioensayo de crecimiento.	94
Tabla XXV. Esteroles en músculo de camarones del bioensayo de crecimiento..	96
Tabla XXVI. Análisis microbiológicos de camarones completos del bioensayo de crecimiento.....	96
Tabla XXVII. Coeficientes de utilización digestiva aparente de los alimentos del bioensayo de digestibilidad.	99
Tabla XXVIII. Coeficientes de utilización digestiva aparente de las harinas experimentales.....	100
Tabla XXIX. Composición proximal de alimentos para gallinas.....	103
Tabla XXX. Lípidos totales y ácidos grasos en alimentos para gallinas.	104
Tabla XXXI. Esteroles en alimentos para gallinas.	105
Tabla XXXIII. Parámetros productivos y características del huevo de gallinas...	107
Tabla XXXIII. Composición química de huevo de gallina.	110
Tabla XXXIV. Ácidos grasos en lípidos neutros en yema de huevo de gallina...	111
Tabla XXXV. Ácidos grasos en lípidos polares en yema de huevo de gallina. ...	112
Tabla XXXVI. Esteroles en yema de huevo de gallina.....	113
Tabla XXXVII. Carotenoides en yema de huevo de gallina.	114
Tabla XXXVIII. Contenido de lípidos en muestras de origen marino analizadas por dos métodos.....	180
Tabla XXXIX. Composición de ingrediente fabricados a partir de subproductos.	182

1. INTRODUCCIÓN

La disposición de residuos orgánicos e inorgánicos que se generan como resultado de la pesca y la acuicultura puede ascender al 60% del total de la producción (Ponce y Gernat, 2002) y es un problema que se estima que tenderá a magnificarse a medida que se establezcan mayores leyes de sanidad durante el procesado de productos pesqueros y acuícolas (Díaz, 2005). Según datos de la CONAPESCA (2016), en México la producción de camarón por acuicultura fue cercana a 86 mil toneladas para el año 2014. De acuerdo con Shirai *et al.* (1997), del 35 al 45% del peso total del camarón corresponde a subproductos (cabeza y exoesqueleto), por lo que se estima que en el año 2014 en México se produjeron alrededor de 34 mil toneladas de subproductos de camarón. En Baja California Sur, se reportó para el año 2014 la captura de 26 mil toneladas de calamar (CONAPESCA, 2016). Según estimaciones realizadas Kreuzer (1984), las vísceras del calamar equivalen aproximadamente el 18% del peso total del organismo, por lo que se calcula que para el año 2014 se desecharon alrededor de 5 mil toneladas de vísceras de este organismo. Así mismo, la captura de hacha en el 2014 fue poco más de 1,000 toneladas de callo (CONAPESCA, 2016), lo cual potencialmente produjo alrededor de 2,600 toneladas de subproductos.

Históricamente los subproductos de pesquerías se consideran de bajo valor o nulo económico y se eliminan en la forma más barata o conveniente; comúnmente arrojándolos al mar, enterrándolos en fosas realizadas para este fin, o amontonándolos al aire libre en los alrededores de las comunidades costeras donde se realizan las actividades pesqueras y acuícolas. Estas prácticas, en mayor o menor medida, provocan efectos negativos como contaminación del ambiente, proliferación de vectores de enfermedades para la población, alteraciones en el paisaje y erosión del suelo (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2008). Hoy en día, en muchos países se hace hincapié en las posibilidades de utilizar los subproductos,

tanto por los beneficios ambientales, como por la posibilidad de darles un valor económico, en lugar de atender problemas asociados a su eliminación. La producción de harina, muchas veces de baja calidad, sigue siendo una de las principales formas de utilización de subproductos acuícolas, y en particular para subproductos de sardina y camarón, pero cada vez se proponen nuevas alternativas de mayor valor agregado (SCAHAW, 2003).

Los subproductos de origen marino son una fuente rica de proteína con una adecuada concentración de aminoácidos esenciales para animales, y además HUFA. En contraste, las materias primas vegetales terrestres carecen de HUFA y son poco digestibles para organismos marinos (Galicia-González *et al.*, 2010), mientras que los subproductos de animales terrestres, también carecen de HUFA específicos, como los omega 3 (n-3) y en muchas ocasiones existe la incertidumbre de la condiciones sanitarias del producto, ya que la mayoría de ellos se producen a partir de organismos explotados en confinamiento o condiciones intensivas (Martin, 2000).

En este trabajo se evaluó la factibilidad tecnológica de procesar subproductos de organismos marinos de Baja California Sur, para su utilización en la producción animal desde el enfoque de la producción de harinas ricas en lípidos mediante la manera convencional, que es el uso de cocción, así como por un proceso alterno que evite el proceso de cocción. A estas harinas se les dio uso acuícola, probando su utilización en el alimento de camarones en cultivo por un lado, y por otro lado, se evaluó su uso avícola al añadir estas en el alimento para gallinas ponedoras y evaluar la composición de lípidos en la yema de huevo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Harina y aceite de pescado

El extendido uso de la harina de pescado como ingrediente principal en los alimentos para la producción animal, especialmente en los acuícolas, se debe a que es una excelente fuente de nutrientes con alto valor biológico, proteína de alta calidad o con alto contenido de aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales, atrayentes y factores de crecimiento (Samocha *et al.*, 2004). Así mismo, el aceite de pescado es rico en HUFA, compuestos que son esenciales para camarones, peces marinos, aves y mamíferos, incluido el humano. El aceite de pescado también es rico en colesterol que es esencial para el camarón, que no lo puede sintetizar (Kanazawa y Teshima, 1977; Kanazawa, 2001). Hasta el año 2000, el 43% de la producción mundial de harina de pescado era destinada para la avicultura, mientras que la acuicultura solo utilizaba el 33% (Hardy y Tacon, 2002). Sin embargo, esto ha cambiado con el aumento de la producción acuícola (Figura 1), ya que el uso de harinas y aceites de pescado destinados a la acuicultura han aumentado considerablemente, llegando a utilizar 56% de la harina y 87% del aceite de la producción mundial actual, a expensas de todos los demás sectores, como el industrial y farmacéutico, destinado principalmente a consumo humano (Decision News Media, 2006).

La demanda de harina y aceite de pescado por el aumento en la actividad acuícola, y la falta de crecimiento de las pesquerías a nivel mundial, como lo muestra la Figura 2, han producido aumentos progresivos en los precios de la harina de pescado (FAO, 2014), alcanzando sus máximos históricos en los últimos años, con \$2,389 USD por tonelada de harina de pescado en diciembre del 2014 (www.indexmundi.com), mientras que el aceite de pescado en octubre del 2014 alcanzó los 2,400 USD por tonelada.

Así mismo, la producción mundial de aceite de pescado ha ido a la baja en los últimos años debido a la disminución en la disponibilidad de materia prima, ya que la pesca a nivel mundial ha permanecido estática (De Silva *et al.*, 2011). Esta

tendencia es un indicativo de la clara volatilidad de la producción de aceite. La limitada disponibilidad y alta demanda de harina y aceite de pescado los hacen ingredientes costosos y disminuyen las ganancias por cultivo de camarón y otras especies que dependen de ellas, por lo que se han realizado extensos estudios sobre la sustitución de harina de pescado con otros productos. La harina de pescado puede llegar a conformar hasta el 50% del alimento, por lo que los costos de acuicultura podrían ser abatidos considerablemente si se disminuye su inclusión en el alimento, como se discute más adelante.

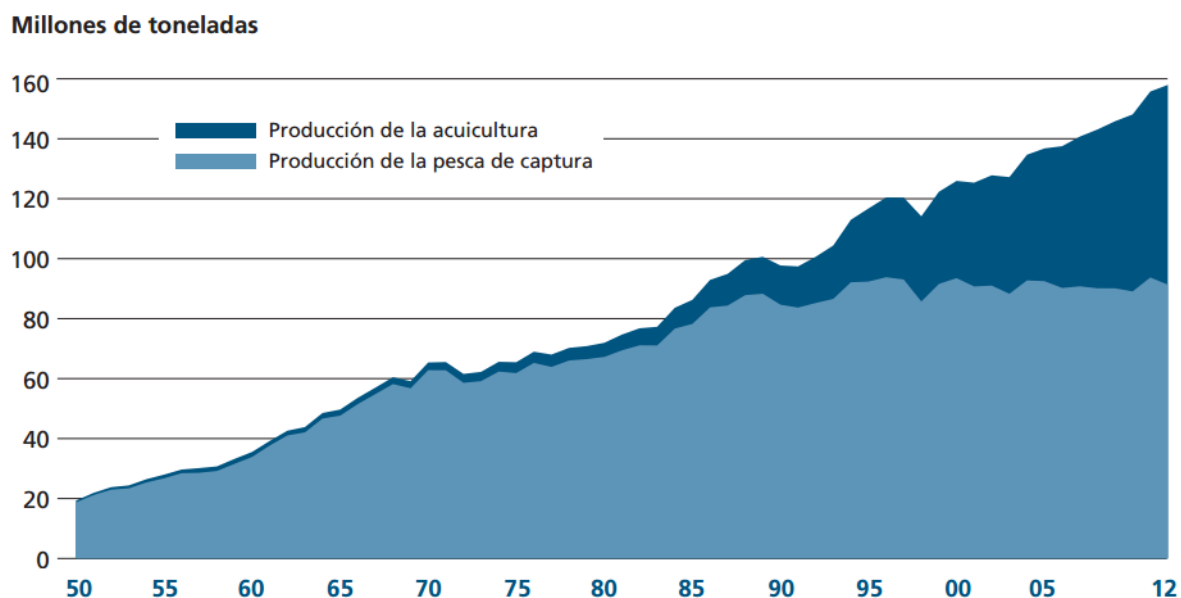


Figura 1. Producción mundial de la pesca y la acuicultura (FAO, 2014).

Las harinas de pescado se obtienen del cocido, prensado, secado y pulverizado de las materias primas, la más común y utilizada, es la de pescado, que puede ser de sardina, arenque, anchoveta, merluza, atún y macarela, entre otras. Las harinas de pescado en general, se caracterizan por tener un alto contenido proteico, además de ser ricas en vitaminas y minerales. Son usadas como ingredientes en la elaboración de alimentos balanceados para la acuicultura

principalmente, pero también se usan en la avicultura, la ganadería y en la elaboración de alimentos para mascotas (Rojas-Gordillo, 2005).

El valor nutricional de las harinas de pescado es notablemente mayor que muchas otras harinas animales o vegetales, debido a que el 65-80% del producto es proteína altamente digerible. De esta manera, proporcionan una fuente concentrada de proteína de alta calidad y con aminoácidos esenciales. El contenido de grasa es bajo en las harinas, pero aun así, la proporción de HUFA es alta. Sin embargo, la elaboración de harinas de pescado se lleva a cabo a partir de diferentes tipos de materias primas, lo que influye sobre la composición del producto final; algunas están basadas en subproductos procedentes de la industrialización del producto para el consumo humano y presentan típicamente un menor contenido en proteína y grasa, así como un alto contenido en cenizas, derivado de la presencia de huesos y escamas (harinas de recortes de pescado). En consecuencia a los múltiples orígenes del harina de pescado, su composición química puede ser muy variable (Sandbol, 1993).

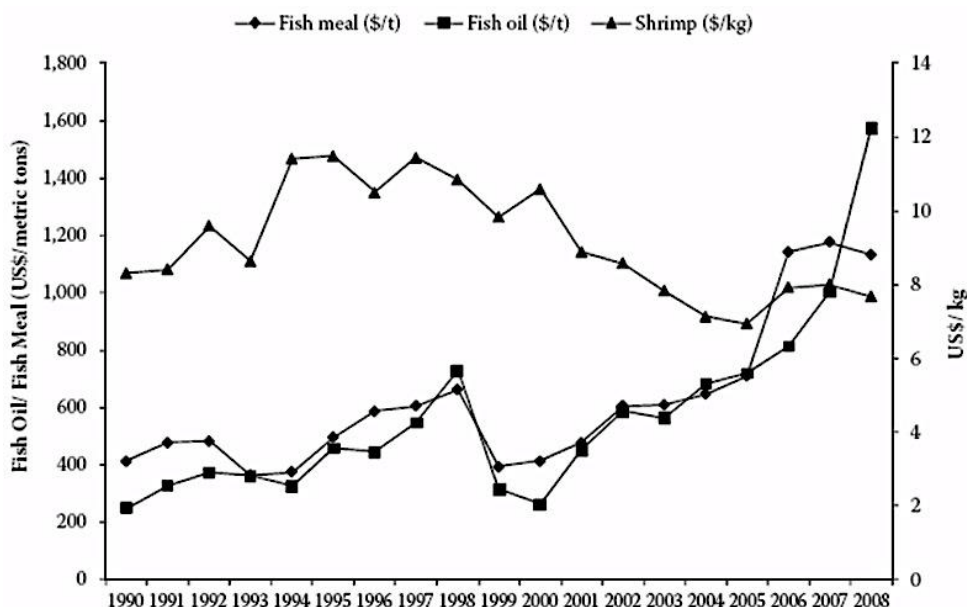


Figura 2. Tendencias en los precios de harina de pescado, aceite de pescado y camarón en venta al por mayor (De Silva *et al.*, 2011).

Durante la producción de harinas de pescado, las materias primas son sometidas a un proceso de cocción con el fin de detener la actividad microbiológica y enzimática responsable de la degradación y para coagular las proteínas en fase sólida, permitiendo la separación del aceite y el agua, si es que se obtendrá este producto por separado, o para remover lípidos de las harinas. El tiempo de cocción comúnmente es de 10-20 min y la temperatura alrededor de 90-100°C (FAO, 1986; SEAFISH, 2008).

En una siguiente etapa, se realiza un proceso de prensado mecánico, el cual genera el agua de prensa que corresponde a la fase líquida, y la torta de prensa, que constituye la fase sólida (Figura 3). Los líquidos extraídos son sometidos a un proceso de decantación para retirar otros sólidos que posteriormente serán reincorporados a la torta de prensa. El agua de prensa sin sólidos es sometida a centrifugación para separar el aceite de la fase acuosa resultante. La centrifugación separa diversos componentes que tiene el agua de prensa como son el aceite, sólidos solubles e insolubles y agua. El líquido remanente, llamado "agua de cola", se evapora para reducir su volumen y concentrarlo. Posteriormente, la torta de prensado y los sólidos resultantes de la evaporación se mezclan para obtener una pasta homogénea.

Esta mezcla es secada hasta obtener un producto con 5-10% de humedad a una temperatura variable de acuerdo al tipo de secado. El material seco se somete a molienda para obtener un tamaño de partícula fino; entre los principales molinos se encuentran el molino de disco y el de martillos. Durante el procesado se pueden agregar antioxidantes con el fin de estabilizar la harina, y que no se deteriore durante el almacenamiento (Olsen *et al.*, 2011).

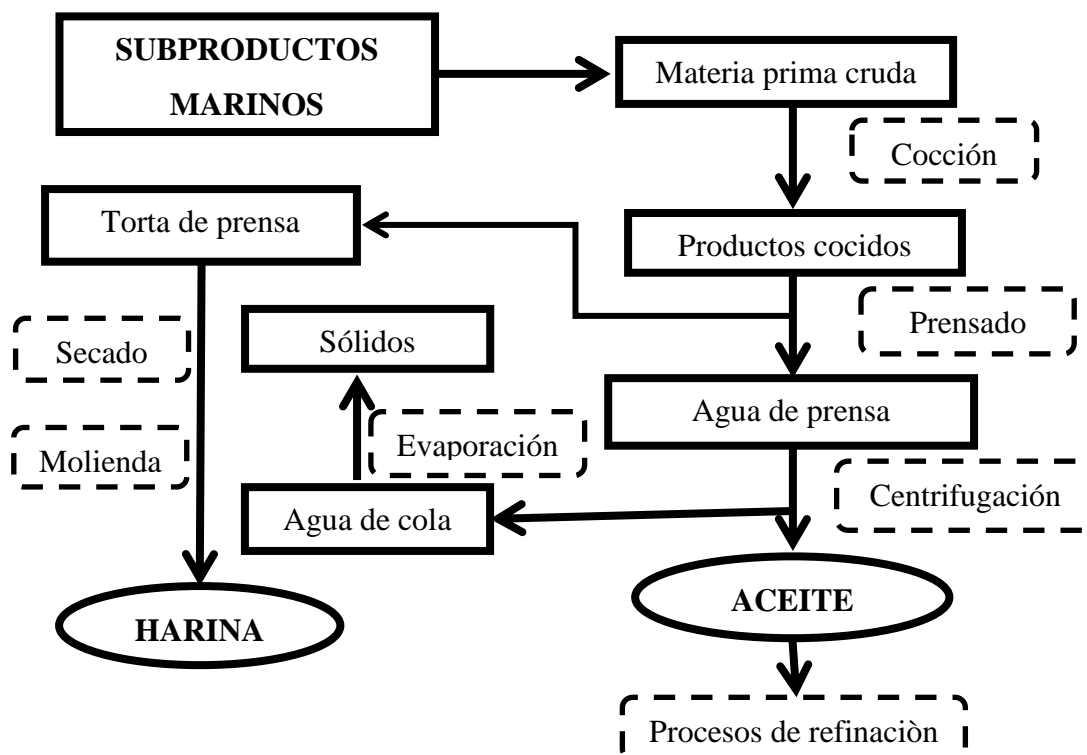


Figura 3. Esquema de producción de harina y aceite a partir de materias primas de origen marino (Basado en Olsen *et al.*, 2011).

2.2 Efectos del proceso de producción sobre la composición bioquímica de la harina

La cocción de las materias primas de origen marino es una práctica muy común en el proceso de elaboración de harinas y aceites, y tiene la finalidad de disgregar las matrices proteicas y facilitar la liberación de los lípidos intracelulares (Chantachum *et al.*, 2000), Además, ejerce un efecto protector a los productos finales, ya que inactiva enzimas tanto propias de la materia prima, como de origen bacteriano, lo que prolonga la vida de anaquel de las harinas (Rodríguez-Amaya, 1999). Sin embargo, la aplicación de calor a una matriz orgánica puede tener efectos negativos sobre los nutrientes, tales como hidrólisis, oxidación, entrecruzamiento de proteínas, y producción de D-aminoácidos, entre otros.

Como ejemplo de lo anterior, podemos mencionar la hidrólisis de triglicéridos, que inicia al exponer los componentes intracelulares al agua, como se ilustra en la Figura 4, y esta reacción es acelerada por el calor (Robert *et al.*, 2001). La hidrólisis o separación de los ácidos grasos de la molécula de glicerol pone en riesgo la calidad de los productos, ya que los ácidos grasos libres son más susceptibles a peroxidación (Kusdiana y Saka, 2004). Es así que ácidos grasos, como el DHA y EPA, pueden ser dañados por este efecto (Domiszewski *et al.*, 2011) ya que reaccionan con radicales hidroxilo y peroxilo debido a sus múltiples insaturaciones, lo que produce compuestos de peroxidación como hidroperóxidos y aldehídos, que pueden afectar la calidad, composición de los ácidos grasos, además de tener efectos adversos a la salud del consumidor (Vasanth Rupasinghe y Yasmin, 2010). El sitio de acción de la peroxidación lipídica son los dobles enlaces, por lo que entre más insaturadas las moléculas son más susceptibles al calor, con una aceleración significativa a partir de los 60°C e incrementos de 15°C duplican las tasas de daño (Sherwin, 1978).

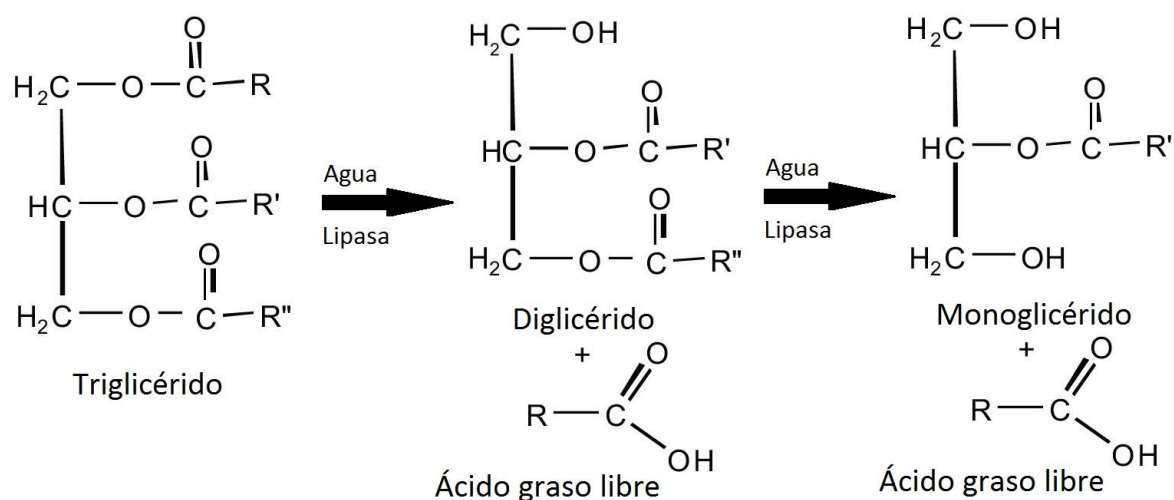


Figura 4. Hidrólisis de triglicéridos (tomada de <http://2012books.lardbucket.org/>).

Aubourg (2001) menciona que la cocción de materias primas marinas (100°C por 55 min) aumenta la acidez de los productos elaborados a partir de estas, debido a la formación de ácidos grasos libres que pueden tener acción prooxidante, dado que los grupos carboxilo aceleran la descomposición de hidroperóxidos a compuestos con bajo peso molecular y de mal sabor, que reducen la vida útil de los productos (Choe y Min, 2006). También se observa un decremento significativo en los fosfolípidos, e incluso la cocción parece tener un mayor efecto sobre los lípidos de este tipo que sobre los lípidos neutros como los triglicéridos (Yamamoto y Imose, 1989). Los tratamientos térmicos, aunados a condiciones de acidez y presión, pueden generar ácidos grasos *trans*, los cuales tienen efectos nocivos a la salud de sus consumidores dado que no son metabolizables por las enzimas y se acumulan en el torrente sanguíneo, estimulando la aparición de placas ateroscleróticas. Los ácidos grasos *trans* se encuentran comúnmente en una proporción de 1% en los aceites industriales sometidos a presión y calor (Valenzuela, 2008). En relación a las vitaminas, se han observado pérdidas hasta del 50% debido a la cocción. Las vitaminas hidrosolubles, como el ácido ascórbico, la tiamina y la riboflavina, y las liposolubles, como el retinol, el calciferol y el alfa-tocoferol son sensibles al calor, pero su degradación también se debe a la liberación conjunta de otros compuestos, como metales y enzimas (Lewis *et al.*, 2000), y en el caso de las liposolubles, a la presencia de oxígeno (Ryley y Kadja, 1994).

Los aminoácidos, como quedó demostrado por Quitral *et al.* (2001), pueden ser alterados por temperaturas de 120°C por periodos de tiempo de 45 min, causando la formación de nuevos enlaces covalentes intra o intermoleculares que alteran el valor nutritivo, ya que estas modificaciones retardan la digestión de las proteínas. Específicamente, la lisina, que se considera nutricionalmente disponible solamente si tiene un grupo amino libre (Ou *et al.*, 2004), disminuye su disponibilidad cuando su grupo amino reacciona con el grupo amino de asparagina y glutamina por efecto del calor, ocasionando un enlace cruzado que disminuye el valor nutritivo por impedimento de la acción enzimática (Shirley y Parsons, 2000). Otro efecto de deterioro de los aminoácidos por efecto del calor y los tiempos de exposición a este,

es la racemización (producción de D-aminoácidos), que se puede iniciar a temperaturas cercanas a los 100°C. Estos compuestos son mucho menos digeribles que los L-aminoácidos, los cuales son los usados por el organismo para formar proteína, además de que los D-aminoácidos compiten por las enzimas que los digieren, lo que de manera indirecta reduce la biodisponibilidad de los L-aminoácidos (Friedman, 2010).

Los pigmentos de las materias primas pueden verse intensamente afectados, con pérdidas del 80% cuando estas son sometidas a procesos de cocción (Schmalko *et al.*, 2001), debido a que estos compuestos tienden a formar isómeros y oxidarse con el calor, y dependiendo de método de cocción, pudieran perderse en el medio (Osawa *et al.*, 2014).

2.3 Sustitutos de la harina de pescado en alimentos acuícolas

La sustitución parcial de la harina de pescado por harina producida a partir de subproductos marinos o a partir de vegetales, es una alternativa para reducir los costos de alimentación en la acuicultura y particularmente en el cultivo de camarón (Davis *et al.*, 2004; Samocha *et al.*, 2004). Las proteínas de origen vegetal (o mezclas) tienen menor precio en comparación con las de origen animal, además de que su composición de nutrientes es relativamente constante y su disponibilidad en el mercado es amplia, sin embargo, la mayoría de ellas contiene factores anti-nutricionales que limitan su utilización. Existe un gran número de posibles sustitutos de la harina de pescado (Tabla I) y también existen numerosos estudios en donde se hace uso de proteína de animales terrestres, principalmente subproductos (Davis y Arnold, 2000; Tan *et al.*, 2005; Hernández *et al.*, 2008). Inclusive, se puede utilizar proteína unicelular (Hardy *et al.*, 2001) o incluir aminoácidos sintéticos en el alimento (Hiau *et al.*, 2010).

Entre las fuentes de proteína vegetal, la pasta de soya ha recibido considerable atención como sustituta a la harina de pescado en la alimentación

acuícola (Akiyama *et al.*, 1991; Hardy, 1999; Forster *et al.*, 2002; Samocha *et al.*, 2004). Una ventaja de la soya es que debido a que la utilización primaria es para obtener aceites, la pasta derivada de ese proceso incrementa su valor proteico en términos de porcentaje del peso seco y en consecuencia su uso para la acuicultura resulta adecuado (García-Galano *et al.*, 2007). Sin embargo, los procesos de extracción de aceite de oleaginosas da lugar a variaciones en el contenido de lípidos residuales en la pasta, además de una posible reducción de la digestibilidad de la proteína por el tratamiento térmico aplicado (Martínez-Palacios *et al.*, 1998).

Tabla I. Fuentes de proteína alternas a la harina de pescado en alimentos para acuicultura.

Origen	Fuente de proteína
Animal marino	Harina de cabezas de camarón
	Solubles y ensilado de pescado
	Harina de krill
	Harina de calamar
Animal Terrestre	Harina de langostilla
	Harina de subproductos avícolas
	Harina de plumas
	Harina de carne y/o hueso
Vegetal terrestre	Harina de sangre
	Pasta y harina de soya
	Harina de girasol
	Harina de canola
Unicelular	Harina de gluten de maíz o trigo
	Bacterias
	Levaduras
	Microalgas

(Tomado de García-Galano *et al.*, 2007)

En los últimos años el precio de la soya no ha sido estable, alcanzando su máximo histórico en 585 USD por tonelada (agosto de 2012). Al día de hoy (abril de 2016) el precio es de 353 USD por tonelada (www.indexmundi.com). Al comparar la

harina de pescado con la de soya, esta última presenta una composición inferior de aminoácidos esenciales, como metionina, lisina y treonina (Tacon *et al.*, 1983).

Las limitaciones en el contenido de aminoácidos de la proteína de origen vegetal pueden ser solventadas con la inclusión de aminoácidos sintéticos y potenciadores del sabor, práctica utilizada para obtener un perfil nutricional más equilibrado, que aumentan la utilización de nutrientes y facilita la elaboración de los alimentos balanceados (Fox *et al.*, 2006). En la Tabla II se muestra la composición de aminoácidos de distintos ingredientes utilizados como fuente de proteína en el alimento de camarones. Las de harina de semillas oleaginosas y leguminosas también presentan una limitada digestibilidad, escasa palatabilidad y factores anti-nutricionales (Rivas-Vega *et al.*, 2006; Galicia-González *et al.*, 2010), y en los productos del trigo y sorgo la mayoría del fósforo está en forma de fitatos, lo que disminuye su biodisponibilidad (Tacon, 1989). Por otro lado, algunas fuentes de proteína derivadas de vegetales terrestres están siendo criticados debido al uso de materias primas genéticamente modificadas, ya que aún se desconoce el efecto que esto podría tener sobre los consumidores (Martín, 2000).

A nivel aplicado, Suarez *et al.* (2009) observaron que la sustitución total de la proteína del harina de pescado por proteína vegetal (soya y canola) durante 95 días produjo camarones *L. vannamei* con menores pesos y tasas de crecimiento, así como una disminución significativa del factor de conversión alimenticia. Amaya *et al.* (2007) no observaron diferencias entre tratamientos cuando sustituyeron al 100% la proteína del harina de pescado por pasta de soya en el alimento de juveniles de *L. vannamei*, en una producción a nivel de estanque durante 18 semanas.

Tabla II. Composición de aminoácidos (% del total de aminoácidos) de harinas utilizadas en la alimentación de camarones.

Arg Cis Tri His Leu Met Ile Lis Fen Tir Tre Val

Arenque ¹	4.2	0.7	0.8	1.7	5.5	2.2	3.2	5.5	2.8	2.3	3.1	3.9
Calamar ²	0.9	--	--	2.1	6.5	3.1	4.5	8.7	4.0	3.2	3.9	5.5
Sardina ³	3.3	0.8	0.5	1.9	4.5	1.9	3.1	5.6	2.3	2.3	2.7	3.6
Krill ⁴	6.7	1.2	--	2.5	7.8	4.0	5.0	8.2	5.2	4.5	4.7	5.3
Langostilla ⁵	3.1	0.3	--	0.9	1.9	0.7	1.0	1.9	1.1	--	1.1	1.6
Soya ⁶	3.1	0.6	0.6	1.1	3.7	0.6	2.7	2.8	2.2	1.6	1.7	2.2
Trigo ⁶	3.5	2.5	0.9	2.1	7.1	1.5	3.9	2.1	4.9	2.8	2.7	4.1

Arg: Arginina; Cis: Cisteína; Tri: Triptófano; His: Histidina; Leu: Leucina; Met: Metionina; Ile: Isoleucina; Lis: Lisina; Fen: Fenilalanina; Tir: Tirosina; Tre: Treonina; Val: Valina; ¹Animal Feed Resources Information, 2004; ²Córdova-Murueta y García-Carreño, 2002 (Manto); ³Tacon, 1987; ⁴Sclabos y Toro, 2003; ⁵Terrazas-Fierro *et al.*, 2010; ⁶Tacon, 1989.

Entre los problemas reportados para harinas de origen de animales terrestres, está la calidad fluctuante (por ejemplo, en relación con el ciclo reproductivo), la posible contaminación microbiana y la transmisión de vectores patógenos, particularmente cuando se usan subproductos de una especie para producir alimento para esa misma especie, como es el caso de la encefalitis espongiiforme bovina en ganado lechero y cárnico (Martín, 2000). En acuicultura tampoco se usan subproductos de camarón en la camaronicultura dado los casos del virus de la mancha blanca y de la cabeza amarilla, que provocaron grandes mortalidades en Asia a partir de 1992 y en América a partir de 1995 (Nunan *et al.*, 1998; Durand *et al.*, 2000).

También se han usado subproductos de avicultura para sustituir totalmente la proteína del harina de pescado en alimentos de camarón *L. vannamei*, sin observarse efectos negativos sobre el crecimiento, supervivencia y peso final después de seis semanas (Samocha *et al.*, 2004). Así mismo, Tan *et al.* (2005) lograron sustituir hasta el 60% de la proteína del harina de pescado por harina de carne y hueso (80% res, 10% cerdo y 10% aves) durante 56 días, sin afectar el crecimiento y la utilización del alimento. Sin embargo, es importante mencionar que a los alimentos experimentales se le añadió aceite de pescado al 4% y 0.5 a 2%, respectivamente.

Se ha probado usar proteína vegetal unicelular, como *Spirulina maxima* que puede sustituir hasta 30% de la proteína de la harina de pescado en alimentos para tilapia roja (*Oreochromis sp.*), sin afectar el crecimiento y utilización del alimento. Generalmente altos niveles de inclusión de proteína unicelular en la dieta limita el crecimiento debido a su elevado contenido de ácidos nucleicos y deficiencias de aminoácidos sulfurados (González-Salas *et al.*, 2014).

Se ha utilizado la levadura *Paffia rodhozyma* en acuicultura por ser una materia prima con proteína y lípidos adecuados para organismos marinos, además de presentar una alta producción de astaxantina. Esta levadura también se ha utilizado con buenos resultados en el enriquecimiento del huevo con astaxantina y aumentando la coloración de la yema en gallinas (Akiba *et al.*, 2000) y codornices (Johnson *et al.*, 1980a). Una desventaja de esta levadura es el alto costo de producción, por lo que actualmente sólo se utiliza como pigmento en alimento para salmónidos (Johnson *et al.*, 1980b).

2.4 Aceite de pescado en alimentos acuícolas

En los trabajos anteriormente citados se utiliza aceite de pescado (~4%) para la fabricación de los alimentos. Al sustituir el aceite de pescado por aceite vegetal o sebo de animales terrestres se debe tomar en cuenta que se está sustituyendo una fuente de ácidos grasos esenciales, específicamente HUFA n-3. Incluso, al sustituir la harina de pescado por otro tipo de harinas vegetales o de animales terrestres, también se pierden HUFA, ya que una cantidad remanente de lípidos permanecen unidos a la harina, por lo general cercana al 10% y rara vez superior al 20%. La Tabla III muestra la composición de ácidos grasos de fuentes de lípidos utilizadas para la elaboración de alimentos acuícolas.

Tabla III. Niveles de PUFA y HUFA (g/100g de AG) de distintas fuentes de lípidos utilizadas en alimentos acuícolas.

	PUFA			HUFA	
	LA	LNA	ARA	EPA	DHA
Aceite de anchoa ¹	2.8	1.8	0.1	7.6-22.0	9.0-12.7
Aceite de arenque ²	0.7-2.8	0.8-2.3	0.2	11.1-16.3	4.6-13.8
Aceite de soya ³	48-58	4-10	-	-	-
Aceite de maíz ³	34-62	<2	-	-	-
Aceite de girasol ³	20-75	<1	-	-	-
Aceite de canola ⁴	11-23	5-13	-	-	-
Aceite de linaza ⁵	15-19	35-56	-	-	-
Sebo de ave ⁶	17	1	-	-	-
Sebo bovino ⁶	4.6	-	0.3	-	-
<i>N. oculata</i> ⁷	0.9	-	3.9	16.4	-
<i>I. galbana</i> ⁷	3.7	5.7	0.1	0.8	9.5
Krill antártico ⁸	3.2	-	-	20.5	14.2

¹Ackman, 1976; ²Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000; ³National Research Council, 1994; ⁴Codex Alimentarius Commission, 2001; ⁵Padley *et al.*, 1994; ⁶Boreau y Meeker, 2011; ⁷Dunstan *et al.*, 1993; ⁸Phleger *et al.*, 2002; PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados; LA: Ácido linoleico; LNA: Ácido linolénico.

Por ende, el ingrediente a utilizar debe contener componentes que mejoren la palatabilidad del alimento, sin perder de vista la calidad del producto final, en razón de sus características sensoriales y su valor nutricional que son de interés del consumidor (FAO, 2008). La Tabla IV muestra la composición de ácidos grasos de fuentes de lípidos utilizadas para la elaboración de alimentos acuícolas.

Se ha probado la sustitución parcial del aceite de pescado (60%) por aceites vegetales en peces marinos, como lubina y dorada durante 100 días, sin observarse efectos negativos en crecimiento o supervivencia, aunque sí ha mostrado un marcado efecto sobre los perfiles de ácidos grasos en músculo (Izquierdo *et al.*, 2003). En el caso de los peces dulceacuícolas y salmónidos esto no es un problema, ya que pueden sintetizar HUFA a partir de la elongación y desaturación de ácidos grasos más cortos, específicamente, de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de 18 carbonos, como el ácido linoleico (18:2n-6) para sintetizar HUFA omega 6 (n-6) ácido araquidónico (ARA o 20:4n-6), y el ácido linolénico (18:3n-3) para sintetizar

HUFA n-3 como ácido eicosapentaenoico (EPA o 20:5n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA o 22:6n-3) (Tocher, 2003).

En los camarones y los peces marinos la síntesis de HUFA a partir de PUFA se encuentra limitada debido a la escasa actividad de la enzima delta-6-desaturasa en estos organismos (Sargent *et al.*, 2002); este mecanismo de síntesis de HUFA está ejemplificado en la Figura 5.

Tabla IV. Composición de ácidos grasos de camarones alimentados con diferentes fuentes de lípidos (g/100g de ácidos grasos).

	PUFA		HUFA		
	LA	LNA	ARA	EPA	DHA
Aceite de soya ¹	35.9	4.2	2.2	7.4	5.5
Aceite de linaza ¹	17.6	23.3	2.1	7.0	5.2
Aceite de sardina ³	9.5	1.6	0.9	7.1	8.2
Aceite de ojo de atún ⁴	9.0	0.6	3.4	15.7	10.0
Aceite de hígado de tiburón ³	5.6	0.2	--	9.6	10.9
Aceite de cabezas de camarón ³	2.9	2.4	--	6.8	7.6
Sebo de cerdo ²	9.5	0.6	0.7	--	--

¹Lim *et al.*, 1997; ²Zhou *et al.*, 2007; ³Chandge y Paulraj, 1990; ⁴Navarro-Hurtado, 2011.

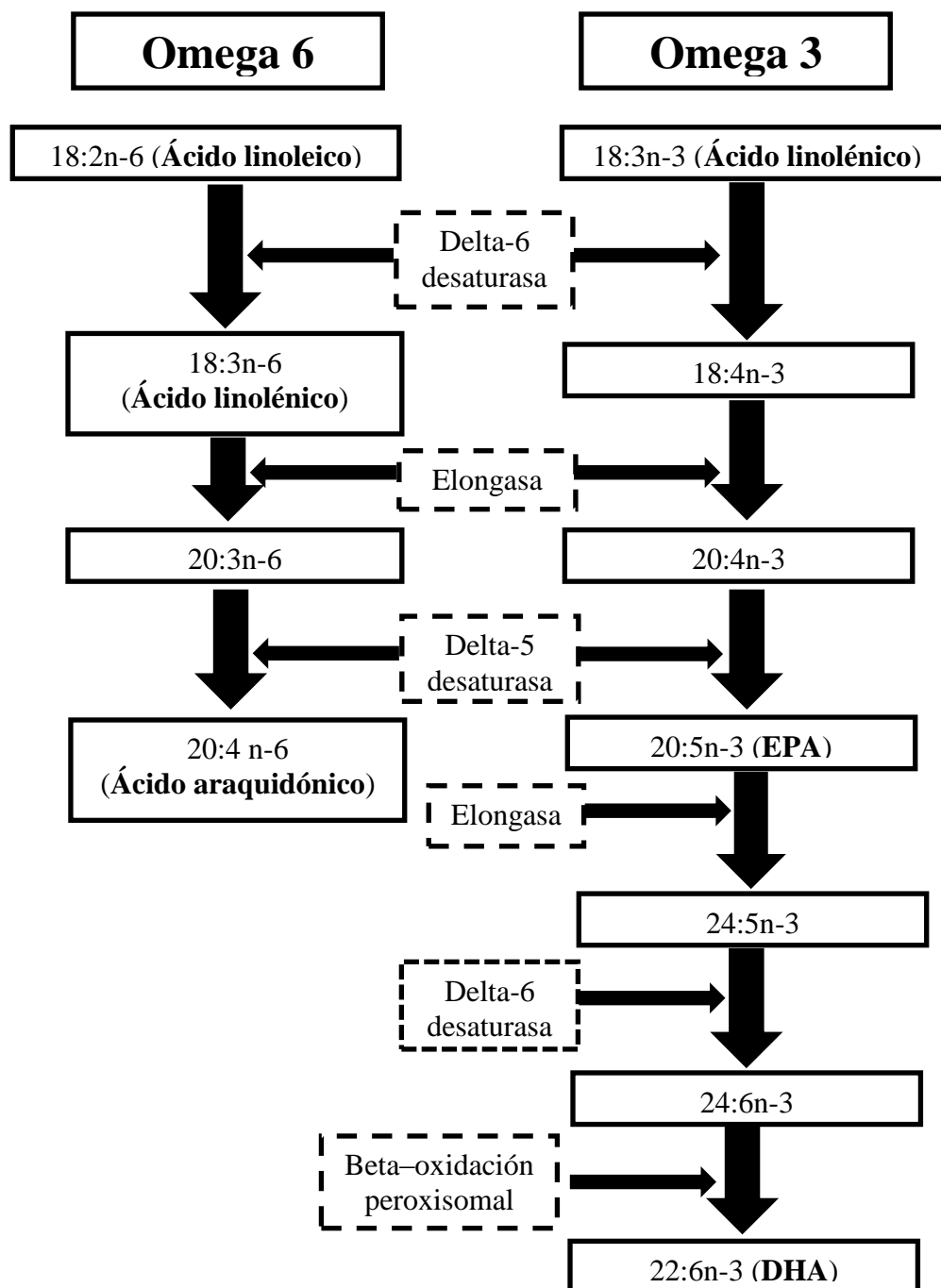


Figura 5. Síntesis de HUFA a partir de PUFA (Sargent *et al.*, 2002).

Otra de las alternativas para sustituir el aceite de pescado es la inclusión de microalgas en los alimentos acuícolas, las cuales son una fuente de HUFA y son efectivas en el enriquecimiento de alimento vivo para larvas y en alimentos formulados para reproductores de teleósteos marinos (Harel *et al.*, 2002). Por ejemplo, se sabe que el 50% de los lípidos de la microalga *Schizochytrium spp.* corresponden a DHA (Behrens y Kyle, 1996). La Tabla IV muestra un resumen de resultados de varios trabajos en relación con la composición de ácidos grasos de camarones alimentados con fuentes de lípidos animales y vegetales. La inclusión de lípidos marinos ricos en HUFA, alternativos al aceite de pescado, puede ser una estrategia adecuada para solventar el aporte de estos ácidos grasos sin afectar la calidad del producto asociado al uso de aceites vegetales. Sin embargo, excluyendo al pescado, las fuentes comerciales de origen marino son escasas, y debido a esto, la búsqueda de fuentes alternativas de lípidos para la elaboración de alimentos para camarón es un área que está siendo atendida (Patnaik *et al.*, 2006). Además de los ácidos grasos, se encuentran los esteroides y pigmentos como lípidos de importancia para la acuicultura. Los camarones, al igual que otros crustáceos, no pueden sintetizar *de novo* el colesterol a partir de acetato o mevalonato, por lo que su presencia en el alimento es esencial (Kanazawa, 2001). Se han realizado estudios en donde se establece que, en ausencia de fosfolípidos, los niveles óptimos de colesterol en la dieta para *L. vannamei* están alrededor de 0.35% del total del alimento (Gong *et al.*, 2000). La adición de 1.5 y 5% de lecitina de soya (rica en el fosfolípido fosfatidilcolina), disminuye el requerimiento de colesterol hasta 0.14% y 0.05%, respectivamente, dado que los fosfolípidos facilitan el transporte de lípidos desde el intestino hasta el músculo, vía lipoproteínas de alta densidad. Los fitoesteroides son moléculas que se asemejan al colesterol en estructura, pero son producidas por las plantas; el sitosterol, estigmasterol y ergosterol están presentes en las microalgas y pueden acumularse en organismos como las almejas, dado que estos se alimentan de microalgas por filtración (Tabla V).

Los fitoesteroles en el alimento del camarón pueden ser transformados a colesterol mediante un mecanismo de alquilación que estos organismo poseen (Figura 6), aunque también hay trabajos que indican que los crustáceos son capaces de utilizar fitosteroles directamente sin necesidad de transformarlos a colesterol. Sin embargo, el uso de fitoesteroles en alimento para el camarón *Marsupenaeus japonicus* ha derivado en menores tasas de crecimiento (Kanazawa *et al.*, 1971), menor eficiencia alimenticia (Teshima *et al.*, 1989) y menor desarrollo larval (Teshima y Kanazawa, 1986), e incluso menor supervivencia en larvas de la langosta *Homarus sp.* (D'Abramo *et al.*, 1984). Por otro lado, se ha reportado que el ergosterol y el 24-metilcolesterol tienen la misma eficiencia que el colesterol en alimentos para larvas de *M. japonicus* (Teshima *et al.*, 1983). Resultados similares fueron reportados por D'Abramo *et al.* (1985) comparando una mezcla de fitosteroles y colesterol en alimentos para *Pacifastacus leniusculus*. También se ha determinado que el β -sitosterol y el estigmasterol pueden igualar o mejorar el crecimiento obtenido con colesterol en algunas especies de crustáceos dulceacuícolas, como *Macrobrachium rosenbergii* (Castille *et al.*, 2004). Por lo anterior, la mayoría de los autores concluyen que la sustitución de colesterol por fitosteroles en los alimentos para crustáceos solo puede ser parcial y con fitoesteroles específicos.

Los pigmentos carotenoides, otro de los componentes presentes en algas y subproductos marinos, son de suma importancia para organismos acuícolas como camarones y algunos peces, ya que pueden conferir una coloración rojiza atractiva para el consumidor (Shahidi, 1998). Además, en los organismos acuáticos, y particularmente en los moluscos, los carotenoides no sólo son responsables de la pigmentación de los tejidos, sino que también actúan como precursores de la vitamina A y son fundamentales para el crecimiento y maduración de las gónadas (Farías-Molina, 2001).

Dentro de las fuentes más ricas en carotenoides se encuentran los crustáceos y subproductos de éstos, pues contienen abundantes cantidades de

astaxantina, y ya han sido probados con éxito en alimentos para salmónidos (Foss *et al.*, 1984), *Pagrus pagrus* (Kalinowski *et al.*, 2005) y *Oreochromis niloticus* (Boonyaratpalin y Unprasert, 1989), entre otros. El uso de subproductos de camarón (por ejemplo, las cabezas) para la pigmentación de crustáceos era común antes de los problemas sanitarios ocasionados por el virus de la mancha blanca en la década de los noventa, a partir de esto, se han buscado alternativas para agregar carotenoides a los alimentos para camarones, como el alga *Haematococcus pluvialis* (Ju *et al.*, 2011), el chile *Capsicum annuum* (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2003), o carotenoides sintéticos (Niu *et al.*, 2009). Otra alternativa, es el uso de subproductos producidos por la pesquería, que actualmente son de bajo costo, tales como vísceras de almejas y calamar. Las cabezas de camarón de pesca o cultivo, en vez de utilizarse en alimentos destinados a la camaronicultura, pueden ser empleado también en alimentos para peces (Nwana, 2003; Cavalheiro *et al.*, 2007) o gallinas (Carranco Jáuregui *et al.*, 2003; Carranco-Jáuregui *et al.*, 2006).

Tabla V. Contenido de esteroides en distintas fuentes de lípidos (% del total de esteroides).

	Desmosterol	Brassicasterol	Campesterol	Estigmasterol	β -sitosterol	Colesterol
Aceite de soya ¹	--	--	22.4	19.2	56.3	--
Aceite de maíz ¹	--	--	21.7	7.3	69.9	--
Aceite de canola ¹	--	13.5	35.6	--	51.1	--
Aceite de girasol ¹	--	--	10.9	8.5	68.5	--
<i>T. suecica</i> ²	--	--	82.5	--	--	1.9
<i>T-Isochrysis</i> ²	0.6	93.9	--	--	--	3.0
A. mano de león ³	3.9	12.1	4.1	4.5	6.9	23.4
Ostión ⁴	11.2	10.8	--	4.8	6.6	37.4
Calamar ⁵	--	0.3	--	--	--	94.9

¹Verleyen *et al.*, 2002; ²Soundat *et al.*, 2000; ³Palacios *et al.*, 2007 (Gónada de *Nidopecten subnodosus*); ⁴Knauer *et al.*, 1998 (*Crassostrea gigas*); ⁵Drazen *et al.*, 2009 (Manto de *D. gigas*).

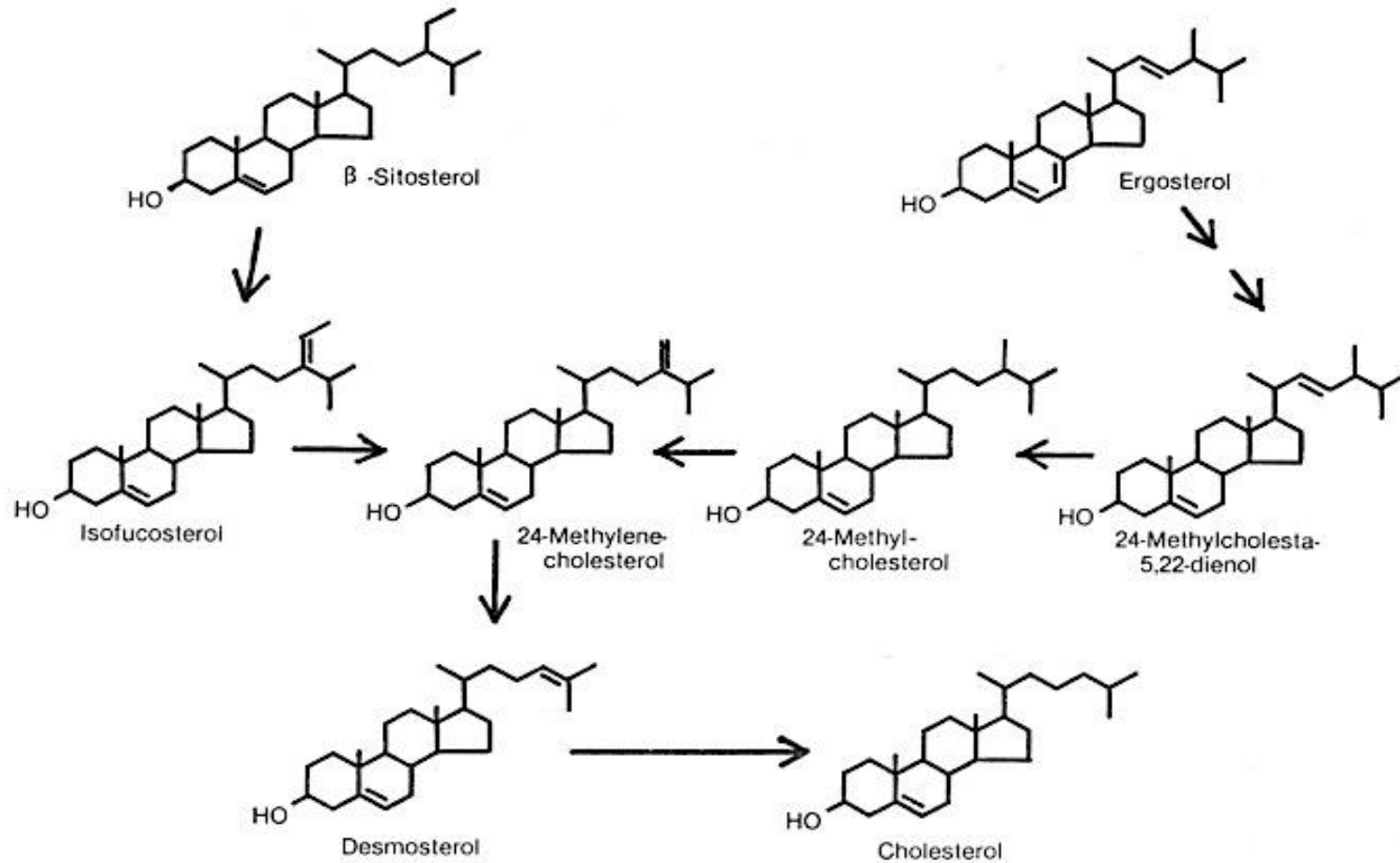


Figura 6. Síntesis de colesterol a partir de fitosteroles. Mecanismo de alquilación C₂₄ para esteroides C₂₈ y C₂₉ en crustáceos, propuesto por Kanazawa (1985).

2.5 Subproductos de pesca y acuicultura

Desde un punto de vista puramente nutricional, el mejor ingrediente para los alimentos, en términos de sabor, estimulación del crecimiento y eficiencia de conversión alimenticia para alimentar a especies acuáticas, es otro u otros organismos de origen similar a su dieta natural en el medio silvestre (FAO, 1997). Por otro lado, los subproductos de pescado y mariscos (cabeza, vísceras, piel, cola, vísceras, sangre y conchas) constituyen en la actualidad un grave problema ambiental (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2008). Estos son generados durante el procesamiento de organismos marinos, y oscilan entre 20 y 60% del organismo. Para los peces pelágicos, como atún, bacalao, anchoa y arenque, cantidades importantes de residuos están representados por despojos, cabeza y cola (27% del peso total de los peces) recogidos después de los procesos de evisceración, despedazado y fileteado (Figura 7). La piel, los huesos y la sangre son los principales residuos secundarios (25% del peso total) recolectados a lo largo de pelado y corte. Los principales esfuerzos para el uso de estos subproductos se han centrado en su aprovechamiento tales como harina para alimentar animales, principalmente ganado, o como fertilizantes de plantas (AWARENET, 2004).

Se estima que en 2012 el 35% de la producción mundial de harina de pescado (19.4 millones de toneladas) fue a partir de subproductos (FAO, 2014), aunque hay que mencionar que existe preocupación de que el uso de subproductos marinos contaminen los productos para consumo humano con vectores nocivos a la salud humana, *i.e.* bacterias coliformes o virus del género *Vibrio* (Kim, 2014), por lo que la forma en la que se procesen debe tomar esto en cuenta. Recientemente, se ha propuesto el uso de los lípidos marinos como nutracéuticos para alimentos funcionales o aplicaciones farmacéuticas, dado el desarrollo de nuevas tecnologías para la recuperación y purificación de HUFA (Kim y Mendis, 2006). Los ácidos grasos en las vísceras es EPA (Arjona *et al.*, 2008), mismas que en su mayoría no son para consumo humano

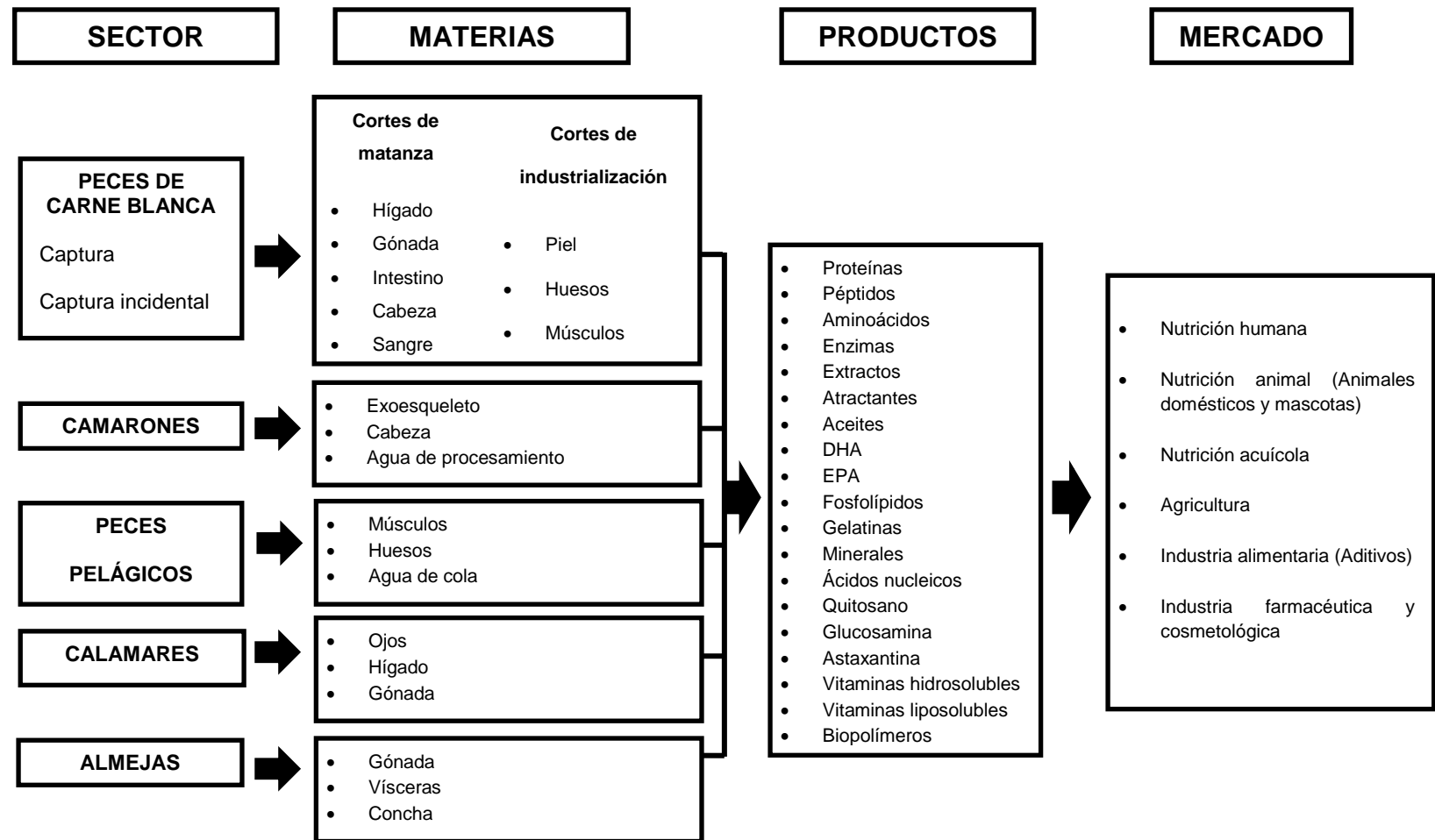


Figura 7. Valor agregado a partir de subproductos marinos (Modificado de RUBIN, 1998).

La mayor concentración de estos compuestos bioactivos se encuentra generalmente en las partes de los organismos marinos que se descartan (AWARENET, 2004). Por ejemplo, las almejas contienen hasta 15% de en México. Considerando la producción de callo de hacha solamente en B.C.S. (Figura 8) es evidente que el uso de sus vísceras pudiera ser una alternativa para obtener productos de alto valor biológico, como los HUFA. También, Reyes-Becerra (2011) y Navarro *et al.* (2013) demostraron que el uso de víscera de almejas en el alimento para camarón otorga resultados similares al uso de ingredientes convencionales, como el harina de pescado. Así mismo, Terrazas-Fierro *et al.* (2010) demostraron que el camarón puede utilizar la harina de las vísceras de almeja en una proporción similar a la harina de pescado.

El calamar puede ser otro potencial productor de compuestos de alto valor biológico, dado que contiene en su manto hasta 35% de DHA (Drazen *et al.*, 2009). Sin embargo, sus vísceras son desechadas al mar en el momento de la captura, lo que equivale a mermas de 18% del peso total del organismo (Kreuzer, 1984), y considerando que la captura de calamar, solamente en Baja California Sur durante e 2014, fue superior a las 25,000 toneladas (Figura 9), se estima que al menos 4,500 toneladas de vísceras fueron arrojadas al mar.

En el caso del camarón se tienen dos fuentes de subproductos, los que provienen de la producción acuícola y los que aporta la pesquería (Figura 10), que en conjunto se estimó que se produjeron más de 10 mil toneladas de subproductos a nivel estatal en 2014 (CONAPESCA, 2015). Esta especie produce una gran cantidad de subproductos, ya que cabezas y exoesqueletos representan aproximadamente el 50% del peso total individual (Shirai *et al.*, 1997).

Una de las principales problemáticas que generaron el aumento en los precios de la harina de pescado, es que la captura de peces pelágicos a partir de los cuales se fabrica este ingrediente, ha presentado una sostenida disminución, lo que ha provocado una escasa oferta y un constante aumento del precio de este

producto (Valenzuela *et al.*, 2012). Hace 50 años se utilizaban 3 millones de toneladas de pescado para producir harina, en los últimos años se utilizaron 28 millones de toneladas y, a este ritmo, se estima que se llegará al límite en el año 2040 (Tacon *et al.*, 2006). Tal es el caso de la captura de macarela en B.C.S. que desde el año 2006 al 2011 presentó capturas por debajo de mil toneladas, repuntando en 2012 y 2013 hasta alrededor de 6 mil toneladas, para desplomarse de nuevo en 2015 (CONAPESCA, 2015). No obstante, es un recurso que está extrayendo por pesca, por lo que usarlo en alimentos para animales es una opción viable para su utilización.

Enseguida se presenta una revisión con los contenidos de los componentes bioquímicos de mayor valor biológico presentes en las materias primas mencionadas anteriormente, como lo son lípidos totales y HUFA (Tabla VI); colesterol y fitoesteroles (Tabla VII), y proteína cruda, así como el perfil de aminoácidos (Tabla VIII).

Dada la variedad de compuestos bioquímicos en los distintos subproductos marinos, es probable que el proceso de cocción descrito anteriormente para producir harina y aceite de pescado, afecte a estos compuestos de forma distinta. En la presente tesis, se usan los modelos de camarones y gallinas, de los cuales hay antecedentes del uso de harina de pescado, para determinar el efecto del uso de subproductos y de dos procesos de obtención de harina a partir de estos: los camarones y las gallinas.

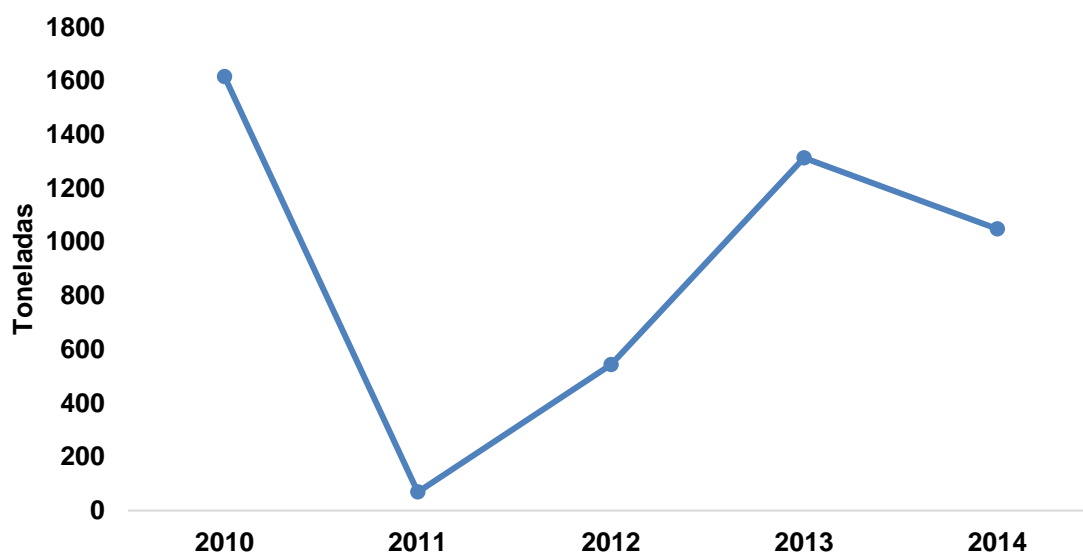


Figura 8. Captura de hacha en Baja California Sur (CONAPESCA, 2015).

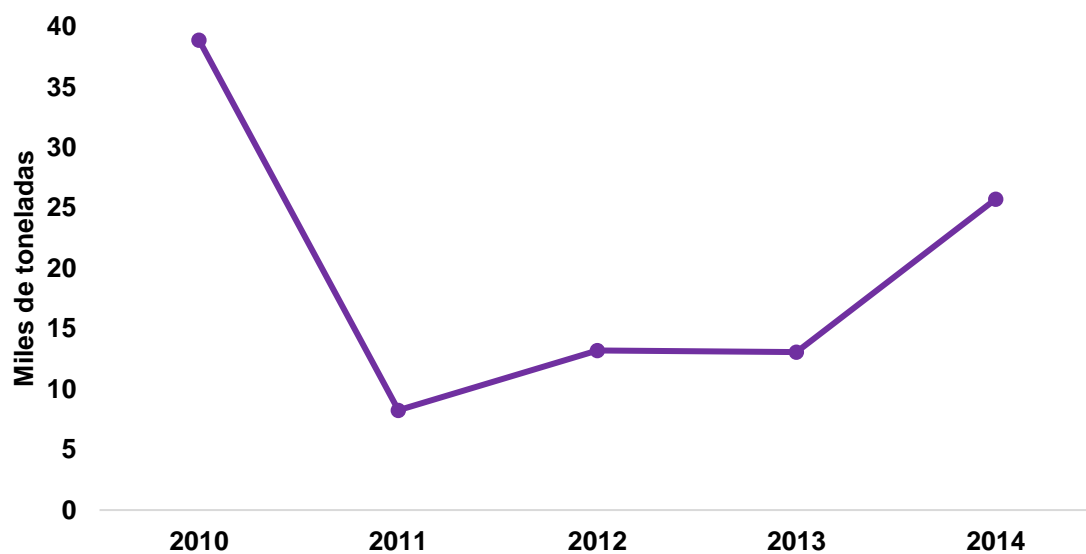


Figura 9. Captura de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en Baja California Sur (CONAPESCA, 2015).

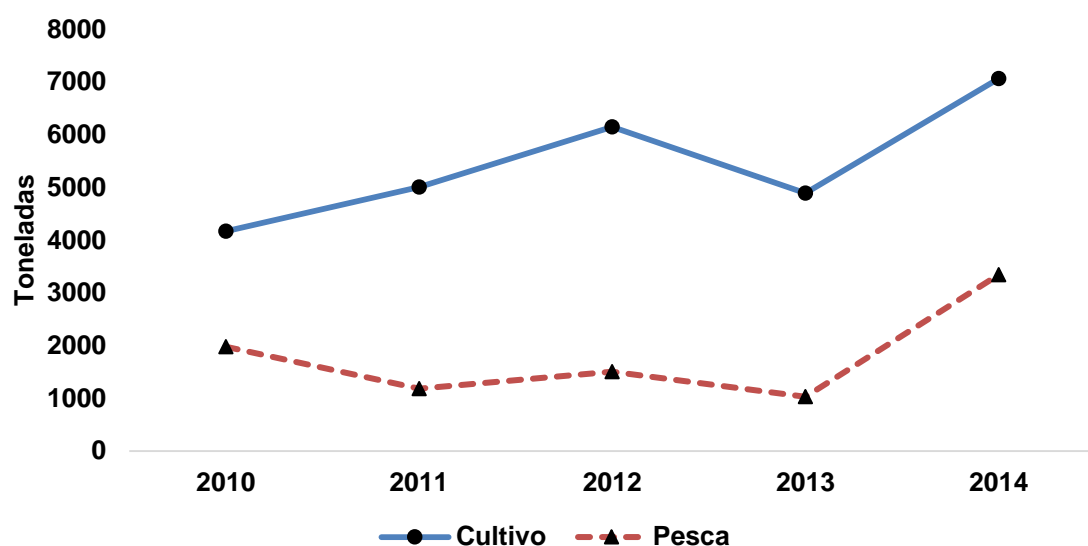


Figura 10. Producción por cultivo y captura de camarón en Baja California Sur. (CONAPESCA, 2015).

Tabla VI. Lípidos totales y HUFA (% del total de ácidos grasos) en diferentes subproductos de origen marino.

	Vísceras de almejas			Vísceras de calamar			Cabezas de camarón			Macarela		
LT	7.2 ^a	8.4 ^b	5.2 ^q	7.8 ^k	10.4 ^m	7.4 ^p	10.4 ^g	4.4 ⁿ	6.8 ^o	12.2 ^r	6.1 ^s	16.6 ^t
HUFA												
ARA	0.9 ^a	0.6 ^c	8.2 ^d	3.5 ^l	1.7 ^j	0.2 ^e	2.3 ^f	5.8 ^h	1.9 ⁱ	3.2 ^r	0.4 ^s	2.1 ^u
EPA	23.7 ^a	18.1 ^c	15.1 ^d	27.2 ^l	12.3 ^j	11.2 ^e	4.7 ^f	11.7 ^h	4.3 ⁱ	2.7 ^r	5.5 ^s	1.6 ^u
DHA	12.1 ^a	14.3 ^c	24.1 ^d	35.8 ^l	22.5 ^j	24.4 ^e	8.3 ^f	12.2 ^h	7.1 ⁱ	21.1 ^r	24.3 ^s	31.2 ^u

LT = Lípidos totales, valores en peso seco. ^aWohlt *et al.*, 1994; ^bRacotta *et al.*, 2003; ^cCaers *et al.*, 1999; ^dRacotta *et al.*, 2008; ^eLian *et al.*, 2005; ^fTakeungwongtrakul *et al.*, 2012; ^gCao *et al.*, 2009; ^hSánchez-Camargo *et al.*, 2011; ⁱBinsan *et al.*, 2008; ^jCho *et al.*, 2001; ^kUddin *et al.*, 2010; ^lde Moreno *et al.*, 1998; ^mKader *et al.*, 2012; ⁿNarayan *et al.*, 2010; ^oFranco-Zavaleta, 2010; ^pCarver *et al.*, 1989; ^qZheng *et al.*, 2012; ^rHale y Brown, 1983; ^sCelik, 2008; ^tSchaefer, 1980; ^uBae *et al.*, 2011.

Tabla VII. Colesterol y otros esteroides (% de esteroides) en subproductos de origen marino.

	Vísceras de almejas			Vísceras de calamar			Cabezas de camarón			Pescado		
Colesterol												
g 100 g ⁻¹	0.4 ^g	0.8 ^h	0.4 ⁱ	3.2 ^e	3.5 ⁿ	3.2 ^p	1.7 ^j	1.6 ^k	1.3 ^l	0.6 ^r	0.9 ^s	0.3 ^t
%	40.3 ^a	24.6 ^b	37.2 ^c	95.6 ^d	93.1 ^o	91.9 ^q	96.3 ^b	99.4 ^f	97.5 ^m	92.9 ^r	96.4 ^s	96.6 ^u
Otros esteroides (%)												
Brassicasterol	18.2 ^a	17.1 ^b	11.4 ^c	- ^d	-	-	- ^b	- ^f	1.2 ^m	- ^r	- ^s	- ^u
Metilencolesterol	0.4	18.0	13.3	-	-	-	0.1	0.1	-	0.6	0.3	-
Dehidrocolesterol	0.3	8.4	12.1	1.2	-	-	1.1	0.2	-	1.1	-	1.0
β-sitosterol	7.1	-	6.3	-	-	-	-	-	0.7	-	-	-
Campesterol	9.2	4.2 ¹	-	-	-	-	0.9	-	0.3	0.8	-	2.1
Norcolesterol	0.1	6.6	-	-	-	-	0.4	-	-	-	0.9	-
Estigmasterol	0.2	-	5.6	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
Desmosterol	0.1	-	11.2	-	-	-	0.4	-	-	0.5	1.3	-
Dihidrocolesterol	-	1.1	-	-	-	-	0.5	0.1	-	-	-	-
Dehidrocolestenol	-	-	-	2.3	-	-	-	-	-	-	0.9	-

^aPalacios *et al.*, 2007; ^bPhillips *et al.*, 2012; ^cKnauer *et al.*, 1998 (*C. gigas*); ^dDrazen *et al.*, 2009 (Manto); ^eLópez-Cervantes *et al.*, 2006; ^fGordon, 1982; ^gRacotta *et al.*, 1998; ^hArellano-Martínez, 2004; ⁱStrumer *et al.*, 2011; ^jTuran *et al.*, 2011; ^kMathew *et al.*, 1999; ^lBragagnolo and Rodríguez-Amaya, 2001; ^mTsape *et al.*, 2010; ⁿKrzynowek y Murphy, 1987; ^oSinanoglou y Miniadis-Meimaroglou, 1998; ^pValverde *et al.*, 2012; ^qApSimon y Burnell, 1980; ^rMika *et al.*, 2012 (*Arenque Clupea harengus*); ^sSouchet y Laplante, 2007 (*Macarela Scomber scombrus*); ^tLuzia *et al.*, 2003 (*sardina Sardinella spp.*); Takagi *et al.*, 1979 (*Sardina Sardinops melanosticta*).

Tabla VIII. Proteína cruda y aminoácidos en diferentes subproductos de origen marino.

	Vísceras de almeja			Vísceras de calamar			Cabezas de camarón			Macarela		
Proteína cruda												
%	31.6 ^a	43.6 ^e	26.0 ^o	37.2 ^j	46.0 ^k	36.8 ^l	55.2 ^g	46.4 ⁱ	37.6 ^m	84.3 ^p	84.4 ^q	75.0 ^r
Aminoácidos (% del total de aminoácidos)												
Arginina	3.8 ^a	7.8 ^e	5.9 ^f	6.2 ^b	10.2 ^c	6.7 ^k	3.6 ^d	1.6 ⁿ	6.4 ^h	5.7 ^u	6.3 ^v	6.2 ^w
Alanina	4.8	6.8	8.4	8.3	5.0	5.2	2.6	1.9	8.7	6.4	7.3	6.3
Leucina	4.2	6.1	5.3	2.8	7.5	8.1	3.5	2.2	4.4	8.6	8.3	8.4
Aspartato	6.0	6.6	6.3	-	9.5	9.9	2.4	3.4	-	10.2	8.5	9.2
Metionina	2.3	2.3	2.1	0.9	3.3	3.0	2.8	0.8	2.0	2.5	2.8	3.2
Isoleucina	2.7	4.0	3.7	1.2	3.9	5.3	1.7	1.5	4.4	5.3	5.0	4.8
Lisina	3.3	6.3	9.3	1.3	6.1	7.9	3.1	1.7	9.5	10.0	8.1	9.9
Glutamato	7.8	12.6	7.8	-	12.6	10.7	8.4	4.5	-	16.0	12.4	18.0
Prolina	2.6	4.5	3.5	8.8	4.3	8.1	2.0	1.3	3.7	3.4	4.3	3.6
Fenilalanina	5.7	3.1	3.2	1.2	3.7	5.7	2.4	4.4	4.5	4.0	4.7	4.1
Treonina	2.7	3.4	4.4	2.6	3.0	5.1	3.1	1.4	3.4	4.7	4.3	0.9
Valina	3.0	3.2	5.6	2.6	4.1	5.6	4.6	1.5	5.3	6.3	5.8	5.9

^aWohlt *et al.*, 1994; ^bGiménez *et al.*, 2009; ^cLian *et al.*, 2005; ^dIbrahim *et al.*, 1999; ^eMyer *et al.*, 1988; ^fJin *et al.*, 2012; ^gCao *et al.*, 2009; ^hBinsan *et al.*, 2008; ⁱHeu *et al.*, 2003; ^jKader *et al.*, 2012; ^kRosa *et al.*, 2005; ^lUddin *et al.*, 2010; ^mFranco-Zavaleta, 2010; ⁿFanimo *et al.*, 2004; ^oReyes-Becerra, 2011; ^pHale y Brown, 1983; ^qCelik, 2008; ^rSchaefer, 1980; ^uBae *et al.*, 2011; ^vIwasaki y Harada, 1985; ^wFeng *et al.*, 2012.

2.6 Modificación de la composición del músculo de camarón por medio del alimento

El camarón es un producto que se considera “gourmet” y es muy apreciado por su sabor, sin embargo, existe la concepción de que el músculo de camarón es un alimento poco saludable debido a su alto contenido de colesterol. Se han realizado varios intentos por sustituir la harina y aceite de pescado por aceite y harina vegetal en el alimento para camarón.

Por ejemplo, se alimentó al camarón *L. vannamei* durante 28 días con alimento hecho a base de harina y aceite de soya, con lo cual se logró disminuir en 12% el contenido total de colesterol en músculo (Cheng y Hardy, 2004). Casas-Valdez *et al.* (2006) adicionaron 4% de harina de alga *Sargasum spp.* en alimento a base de harina y aceite de pescado para camarón café *Farfantepenaeus californiensis*, lo cual disminuyó 30% la concentración de colesterol total (de 110 a 77 mg 100 g⁻¹) en músculo en comparación con un tratamiento con alimento comercial. Forster *et al.* (2010) usando aceite de algas comercial (DHASCO-S, Market Biosciences Corp., Columbia, MD) lograron bajar el colesterol en músculo de *L. vannamei* de 193 mg 100 g⁻¹ a 148 mg 100 g⁻¹, además de aumentar los niveles de HUFA. Esto es notorio porque uno de los problemas de uso de aceites vegetales o sebo de animales terrestres es que éstos carecen de HUFA, lo cual se refleja en la composición del músculo.

González-Félix *et al.* (2002c) probaron el uso de aceites vegetales (coco, soya, linaza y cacahuate) en el alimento para *L. vannamei*, y encontraron una menor acumulación de HUFA en músculo en comparación con camarones cuyo alimento fue elaborado con aceite de pescado. Hallazgos similares habían sido reportados previamente también para *L. vannamei* por Lim *et al.* (1997), y posteriormente por Zhou *et al.* (2007), utilizando distintos aceites vegetales y sebo de cerdo. Incluso, sustituyendo 50% del aceite de pescado en el alimento se presenta una disminución significativa de al menos 34% de los HUFA en músculo de camarón blanco de la India *Fenneropenaeus indicus* (Ouraji *et al.*, 2009). La sustitución total del harina de

pescado por proteína de soya, así como la sustitución de hasta el 90% del aceite de pescado por aceite de soya (alto en 18:2n-6) ha mostrado disminuir a la mitad la concentración de HUFA n-3 en músculo de *L. vannamei* (de 19% del total de ácidos grasos en el grupo control a 5% en grupos que recibieron dietas con la sustitución) y aumentar la de 18:2n-6 al doble (de 23% del total de ácidos grasos en el control a 44% con la sustitución).

Otro aspecto que puede ser modificado por medio del alimento es la pigmentación del músculo, para lo cual se ha probado harina de pimiento rojo al 6.6% en el alimento de *Penaeus semisulcatus*, que al término de 60 días, aumentó casi al doble el contenido de carotenoides totales en músculo (de 13 a 22 mg kg⁻¹), igualando el efecto de un alimento adicionado con 100 mg kg⁻¹ de astaxantina sintética (Gocer *et al.*, 2006). Parisenti *et al.* (2011) encontraron que una mezcla de 5 g kg⁻¹ de *Haematococcus pluvialis* y 20 g kg⁻¹ de lecitina de soya en el alimento para *L. vannamei* aumentaba el contenido de astaxantina en músculo a más del doble (de 3.2 a 8.5 mg kg⁻¹) en relación con un alimento elaborado con harina y aceite de pescado y sin aditivo para pigmentación. De forma similar, Ju *et al.* (2011) utilizaron astaxantina extraída de *H. pluvialis*, la cual aumentó el contenido de astaxantina en músculo en comparación con astaxantina sintética (97 mg kg⁻¹ con astaxantina natural vs. 46 mg kg⁻¹ con astaxantina sintética), aun cuando los niveles de astaxantina en el alimento fueron iguales (150 mg kg⁻¹). Con base en lo anterior, surge el interés de encontrar ingredientes y/o aditivos que puedan cumplir múltiples funciones, tales como modificar la composición del músculo de camarón.

2.7 Modificación de la composición del huevo de gallina por medio del alimento

El consumo de huevo en México durante 2014 fue de 22 kg per cápita (Figura 11), equivalente a 1 huevo diario por persona, ocupando el primer lugar a nivel mundial (UNA, 2014). Si esta tendencia continúa, y dada la producción masiva de huevo en el mundo y en particular en México, se espera que se usen 100,000 toneladas de

aceite de pescado para incrementar los niveles de HUFA n-3 en el huevo, lo cual representa un área de oportunidad importante para la utilización de materias primas de origen marino en la fabricación de insumos que disminuyan la demanda de aceite de pescado y que también le confieran al huevo bondades para el consumidor.

El huevo es altamente nutritivo para el humano, dada la cantidad de proteína que contiene. Un huevo de 60 g contiene aproximadamente 41 g de agua y 7 g de proteína. El albumen o clara del huevo se compone mayoritariamente de agua (90%) y proteína (10%), constituida por ovoalbúmina, conalbúmina y ovomucina, mientras que la yema en base seca contiene 30% de proteína.

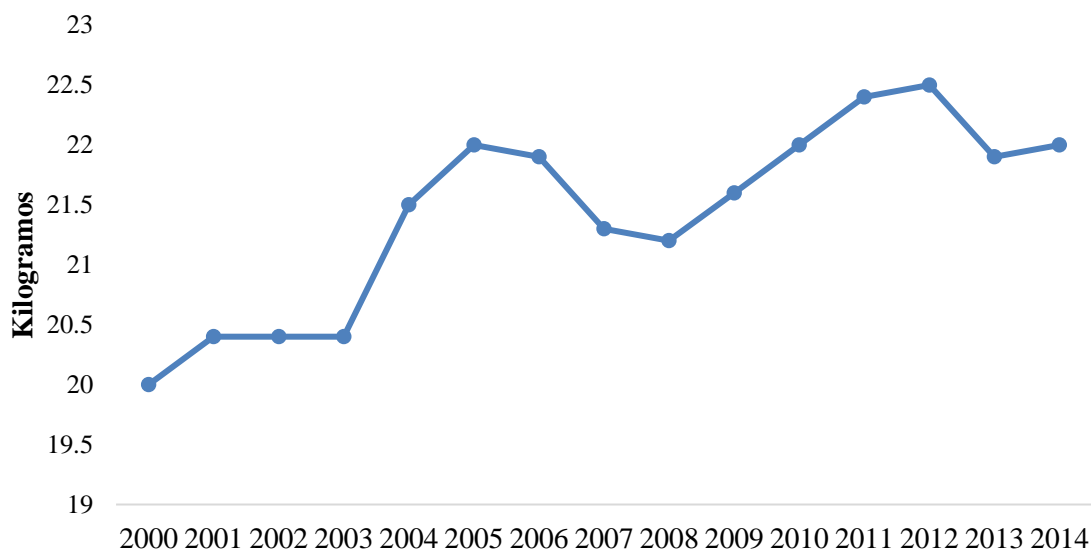


Figura 11. Consumo anual *per capita* de huevo en México (www.una.org.mx).

El consumo de huevo fue recomendado ampliamente durante muchos años, sin embargo, hace poco más de 40 años iniciaron las investigaciones para el desarrollo de estrategias nutricionales, genéticas y farmacológicas para reducir el alto contenido de colesterol en humanos (Elkin, 2006), ya que desde entonces se consideró que podía ser dañino para las personas con problemas cardiovasculares. Un huevo de 60 g contiene aproximadamente 0.2 g de colesterol (Sauveur, 1993),

la mayoría se encuentra en la yema de huevo, ya sintetizado por el organismo o proveniente de la dieta de la gallina (Astiasaran y Martínez, 2003).

El huevo también contiene 6 g de grasa, acumulados en la yema en forma de lipoproteínas (vitelina) que esta compuesta por 30% de proteína y 63% de lípidos, de los cuales casi 30% son fosfolípidos. Del total de ácidos grasos, 2.3 g o el 30% son saturados (SFA), siendo los más representativos el 16:0 (22% del total) y el 18:0 (8% del total). Los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) representan el 44% de total, siendo el 18:1n-9 el más abundante (40% del total). El 18:2n-6 es el PUFA más abundante (18% del total), mientras que los HUFA acumulan menos del 4% del total de ácidos grasos, siendo 2% de ARA, y 1% de DHA. Los EPA se presentan en muy baja proporción (<0.2%), con proporción de HUFA superior en los fosfolípidos que en los triglicéridos (Grobas y Mateos, 1996).

Se ha realizado muchos trabajos con el propósito de incrementar los niveles de omega n-3 en huevo, dado su alto contenido de PUFA n-6. Esto es posible porque la dieta afecta los PUFA en el huevo, a diferencia del colesterol que es independiente de la dieta. Una de las formas más usadas para incrementar los omega n-3 es usando aceite de pescado. Hargis *et al.* (1991) alimentaron gallinas con 3% de aceite de arenque durante 18 semanas y encontraron un aumento significativo de ácidos grasos n-3 (235 mg de los cuales 89% EPA-DHA) y disminución de n-6. Oh *et al.* (1991), y Herber y Van Elswyk (1996) utilizaron 10% y 3% de aceite de pescado, respectivamente, para producir huevo con alto contenido de n-3, sin embargo, encontraron que estos tenían sabor desagradable. Van Elswyk *et al.* (1992) incorporaron 3% de aceite de arenque al alimento de gallinas durante 12 semanas y encontraron una disminución de 70% de n-6 y aumento de 75% en n-3 en huevo, además éste no presentó un rechazo por mal sabor cuando fue evaluado por los consumidores. Resultados similares fueron reportados por Marshall *et al.* (1994) incluyendo 1.5% de aceite de arenque durante 4 semanas. Van Elswyk *et al.* (1994), utilizando 1.5% de aceite de arenque en alimento de

gallinas, obtuvieron una concentración de ácidos grasos n-3 en yema similar a la de una ración de pescado para consumo humano (180 mg por huevo).

González-Esquerro y Lesson (2000) utilizaron 2, 4 y 6% de aceite de arenque deodorizado y encontraron que el peso del huevo disminuyó linealmente conforme se aumentó el nivel de inclusión del aceite de pescado, y los n-3 aumentaron de 53 mg a 246-343 mg por huevo. En cuanto al sabor del huevo, no encontraron diferencias entre el huevo de gallinas alimentadas con aceite deodorizado y el que no lo estaba, pero en ambos casos sí disminuyó la preferencia en cuanto a sabor con respecto al testigo.

Otros trabajos han probado ingredientes alternativos al aceite de pescado con la finalidad de mejorar la composición del huevo. Por ejemplo, Herber y Van Elswyk (1996) probaron alimentos con 1.5% de aceite de pescado y 2.4% de microalga por 4 semanas, y los resultados mostraron similitudes en ácidos grasos n-3 (9.4 y 9.5 mg/g, respectivamente), de los cuales una alta proporción fue DHA (86% y 93%), con un contenido total de n-3 por huevo de 160 mg y 165 mg. Carrillo *et al.* (1998) usaron alga café *Sargassum sinicola* a 6 y 9% en la ración de gallinas ponedoras, con lo que se logró reducir el contenido del colesterol en el huevo, pero no se incrementó la concentración de n-3. Baucells *et al.* (2000) encontraron que, sustituyendo el aceite de pescado por aceite de soya, aumenta los niveles de ácido linoleico y araquidónico en huevo.

Otra característica importante para el consumidor de huevo, además de sus propiedades nutricionales, es la coloración de la yema, lo que está estrechamente relacionado con el contenido de carotenoides en el huevo. La presencia de carotenoides está relacionada con la protección antioxidante en tejidos durante el desarrollo embrionario, en particular durante la eclosión, donde el estrés oxidativo es mucho más pronunciado (Surai, 2001). En gallinas alimentadas a base de granos como maíz y trigo, se tiene que prácticamente la totalidad de los carotenoides en yema son luteína y zeaxantina (Karunajeeva *et al.*, 1980), ya que el contenido de estos pigmentos en la yema depende totalmente de la presencia de carotenoides

en el alimento. En animales criados en condiciones de pastoreo, que consumen alimentos silvestres (semillas, frutos, hojas frescas, insectos, etc.) encontramos una mayor variedad de carotenoides, como cantaxantina, criptoxantina y β -caroteno (Sinanoglou *et al.*, 2011).

Numerosos ingredientes de origen vegetal han sido utilizados con éxito en el aumento de la coloración y el contenido de carotenoides en la yema de huevo; Karadas *et al.* (2006) lograron aumentar 10 y 20 veces el contenido de carotenoides, particularmente luteína, en yema utilizando concentrados de alfalfa (20 g kg^{-1}) y cempasúchil (2 g kg^{-1}) durante 26 días, en comparación a un control a base de trigo, cebada y soya; además, el valor de color de yema por abanico de colores aumentó de 1.5 a 7.7 y 8.8, respectivamente. Akdemir *et al.* (2012) utilizaron polvo de tomate (10 g kg^{-1}), durante 90 días en alimentos para gallinas, lo que aumentó a más del doble el contenido de β -caroteno y provocó la acumulación de licopeno en yema; el valor de coloración de yema aumentó de 11.2 a 13.5. Cho *et al.* (2013) utilizaron carotenoides sintéticos para aumentar el color de la yema, como cantaxantina (0.2 g kg^{-1}) que logró aumentar el color de la yema de un valor de 4.8 en el control, a 9.7 después de 5 semanas de experimentación.

Otro ingrediente utilizado para aumentar el contenido de carotenoides y la coloración en yema es la harina de cabezas de camarón (*Peneaus sp.*), que fue suministrada al 25% del alimento durante 4 semanas, lo que provocó que la coloración de la yema aumentara de un valor de 4.4 a 7.3, y que la astaxantina en yema se elevara de 0.04 mg g^{-1} a 0.25 mg g^{-1} (Carranco *et al.*, 2003).

3. JUSTIFICACIÓN

Los subproductos generados por la actividad pesquera y acuícola pueden ascender al 60% del total de la producción (Ponce y Gernat, 2002) y constituyen en la actualidad un grave problema ambiental debido a que resultan ser contaminantes (Arvanitoyannis y Kassaveti, 2008). Sin embargo, su gestión para producir harina y aceite podría incrementar el valor agregado de la pesca y la acuicultura, dado al contenido de aminoácidos, ácidos grasos y pigmentos acumulados en los subproductos. Sin embargo, los procesos de producción de harinas y aceites de origen marino utilizan la cocción y otros procesos térmicos durante el procesamiento de las materias primas que pueden tener efectos negativos sobre la calidad de los compuestos de alto valor biológico, como los HUFA, pigmentos y proteínas.

Lo anterior hace necesario implementar sistemas de producción de harinas y aceites que conserven, en la mayor medida posible, los nutrientes en las materias primas de origen marino, para generar productos que al ser utilizados en la nutrición animal, tengan una composición adecuada para el crecimiento y supervivencia de los organismos en cultivo, sean capaces de mejorar la calidad de los productos finales, y generar productos alimenticios funcionales, es decir, que además de cumplir con su función básica de nutrir, puedan tener un impacto benéfico sobre la salud de quien los consuma.

Para dicho fin, en la presente investigación probamos dos modelos biológicos: el músculo de camarón y el huevo de gallina.

4. HIPÓTESIS

Composición bioquímica de harinas

- Si durante la fabricación de harinas de origen marino, la cocción deteriora y disminuye los nutrientes de la materia prima, entonces, las harinas de pescado y subproductos marinos elaboradas sin cocción presentarán menor deterioro y tendrán mayor contenido de nutrientes.

Alimento para camarón

- Si las harinas fabricadas sin cocción presentan un menor deterioro y mayor contenido de nutrientes que las harinas cocidas, entonces, su inclusión como ingredientes en el alimento para camarón permitirá sustituir la harina de sardina sin afectar negativamente el desempeño en cultivo, la digestibilidad de nutrientes y la calidad del músculo de camarón para consumo humano.

Alimento para gallinas ponedoras

- Si las harinas fabricadas sin cocción sufren menor deterioro y tienen mayor contenido de nutrientes que las harinas cocidas, entonces, su inclusión como aditivos en el alimento para gallina ponedora permitirá obtener igual o mayor desempeño productivo y calidad del huevo para consumo humano.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la composición bioquímica de subproductos marinos procesados con o sin cocción, utilizarlos como ingredientes en alimentos para camarón, y como aditivos en alimentos para gallina, y evaluar sus efectos sobre los parámetros de producción, y calidad de músculo de camarón y huevo de gallina, para consumo humano.

5.2 Objetivos específicos

1. Comparar la composición bioquímica de harinas de vísceras de hacha y calamar, cabezas de camarón y macarela entera, procesadas con o sin cocción.
2. Determinar el efecto de la sustitución de la harina de pescado en el alimento para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei* con harinas obtenidas con o sin cocción, a partir de vísceras de hacha y calamar y macarela entera, sobre el desempeño en cultivo, la digestibilidad aparente y la composición bioquímica del músculo del camarón.
3. Determinar el efecto de la inclusión de harinas obtenidas con o sin cocción, a partir de vísceras de hacha y calamar, cabezas de camarón y macarela entera, como aditivos en el alimento para gallinas, sobre la producción de huevo y el contenido de ácidos grasos, colesterol y carotenoides en la yema.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Objetivo particular 1. Preparación y análisis bioquímico de harinas experimentales con o sin cocción.

6.1.1 Obtención de materias primas

Se colectaron vísceras de hacha (*Pinna rugosa*) en “mataderos” de Puerto San Carlos, B.C.S. Los organismos completos fueron medidos y pesados, los callos fueron separados manualmente de las vísceras, colocándolos en una cubeta limpia, mientras que las vísceras fueron colocadas en un contenedor de 200 L, de donde se tomaron para formar lotes (bolsas) de 4 kg; desde el arribo de los pescadores a la playa hasta este punto transcurrieron aproximadamente 2 h. Después se colocaron las bolsas en hielo para su transporte al CIBNOR (menos de 8 h).

En Puerto Cancún, B.C.S. se acopiaron cabezas de camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*). Los camarones eran traídos completos al sitio de acopio en donde fueron descabezados, se formaron lotes de 3 kg, los mismos que fueron conservados en hielo. Cuando las materias primas llegaron al CIBNOR fueron almacenadas en un congelador a -18°C hasta su procesamiento. Para obtener las vísceras de calamar (*Dosidicus gigas*) fue necesario adquirir organismos completos en una comercializadora de mariscos congelados, pesarlos y eviscerarlos en el laboratorio. Las vísceras se guardaron en bolsas de plástico y se almacenaron a -18°C. La macarela (*Scomber japonicus*) se adquirió con el mismo proveedor, y se almacenó de forma similar al resto de los subproductos. La Figura 12 muestra todas las materias primas en fresco.

6.1.2 Procesamiento de las materias primas

Para la fabricación de las harinas, las materias primas fueron tapadas y puestas a la sombra a temperatura ambiente, por aproximadamente 12 h, hasta su descongelamiento. Para la elaboración de las harinas por secado (en adelante llamada harina secada), se homogenizaron las materias primas, previamente

pesadas, en un molino de carne de 3/4 HP (TOR-REY^{MR}, Monterrey, N.L., México) mediante el uso de un dado de ¼ de pulgada. Este proceso se repitió 4 veces para cada materia prima. Los productos homogenizados se colocaron en charolas de plástico, sobre tapetes de silicón para evitar que el material se adhiriera a la superficie, y se formó una película delgada, no mayor a 0.5 cm, para posteriormente poner las charolas dentro de una estufa con ventilación a 60°C por 24 h. Durante el secado se hicieron revisiones periódicas, removiendo ligeramente el material, con el fin de exponer los lugares en donde se concentró más humedad, facilitando y acelerando el secado. Los productos secos fueron molidos en un molino eléctrico para granos, y tamizados a 250 µm. Las harinas se conservaron en refrigeración hasta su utilización.

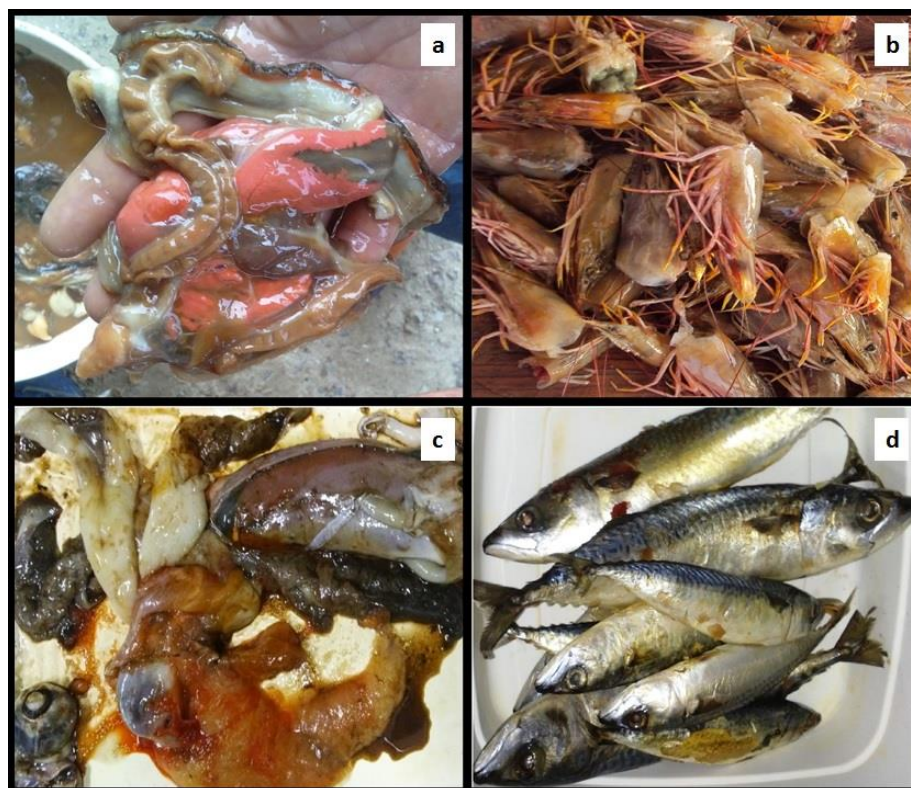


Figura 12. Materias primas utilizadas: (a) vísceras de hacha, (b) cabezas de camarón café, (c) vísceras de calamar y (d) macarela.

Para la elaboración de las harinas con cocción (en adelante llamada harina cocida), se descongelaron las materias primas de manera similar a lo antes mencionado, se colocaron lotes de 2 kg aprox. en un colador cónico, el cual se sumergió dentro de una olla (cap. 80 L) de acero inoxidable que contenía agua de la llave hirviendo (Figura 13), por un periodo de 10 min después de volver a bullir. Posteriormente, las materias primas cocidas fueron colocadas en charolas de plástico para su secado a 60°C. La pulverización, tamizado y conservación se llevaron a cabo de manera similar al proceso mencionado arriba para harinas secadas.



Figura 13. Procesamiento de materias primas: Los productos cocidos (a), o molidos sin cocción (b), se colocaron en charolas para ser secados en estufa de aire (c).

6.1.3 Análisis bioquímicos

Químico proximal. Se destinó una muestra de cada lote para hacer análisis químico proximal por triplicado, siguiendo los métodos oficiales de la AOAC (2005). La humedad se determinó en estufa de desecado (Terlab®) a 105°C durante 4 horas. La cuantificación de cenizas, por incineración de las muestras en una mufla (Thermolyne 6000®) a 550°C durante 6 hrs. El análisis de proteína cruda se realizó por el método de DUMAS, con un equipo analizador de Nitrógeno/Proteína (Leco FP-528). La cuantificación de extracto etéreo se hizo usando un sistema de autoextracción (Soxtec AVANTI 2050®), usando éter de petróleo como solvente extractor. Para determinar la fibra cruda, se hizo una hidrólisis ácido-básica con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en un digestor (Fiber Tec M6 Tecator®) equipado con una unidad de extracción caliente y una unidad de extracción fría. Se calculó el extracto libre de nitrógeno (ELN) a partir de la diferencia entre 100% y la suma de las determinaciones de cenizas, proteína cruda, extracto etéreo y fibra cruda.

Energía bruta. Para la determinación de energía bruta se usó un calorímetro adiabático (PARR1261®) empleando crisoles de acero inoxidable, donde se colocaron pastillas de 1g de las muestras, secadas previamente a 70°C en una estufa por 12 h. Se empleó alambre (10 cm) con una aleación de níquel-cobre el cual estuvo en contacto con la muestra, lo que permitió la ignición. La muestra fue incinerada en una cámara de combustión alimentada con oxígeno. Posteriormente, los residuos líquidos de la combustión fueron recuperados y titulados con carbonato de sodio 0.725 N; el naranja de metilo fue empleado como indicador y también se cuantificó la cantidad de alambre calcinado durante la combustión para los cálculos de la energía liberada.

Aminoácidos. El perfil de aminoácidos se determinó según Vázquez-Ortiz *et al.* (1995), mediante un HPLC (Varian, modelo 9012) equipado con detector UV (Varian Fluorichrom Detector). La separación de aminoácidos se realizó a 330 nm en una columna Micrhosorb con partículas C-18 de octadecil dimetilsilano y tamaño de partícula de 3 µ (10 cm x 4,6 mm; Rainin Instrument Co., Emeryville, California). Se

utilizó metanol como fase móvil y acetato de sodio (0,1 M) como buffer, a un flujo de 1.4 mL min⁻¹. La identificación se logró utilizando un λ de 330 nm y filtro de emisión de 428 nm, de acuerdo con tiempos de retención de los estándares.

Ácidos grasos metil esterificados (FAME). Se colocó 1 g de muestra de las materia prima en viales con 6 mL de solución Folch (cloroformo:metanol, 2:1), 10 μ L de BHT (butilhidroxitolueno) a una concentración de 0.5 mg mL⁻¹ como antioxidante, 10 μ L de 23:0 (ácido tricosanoico) a una concentración de 2 mg mL⁻¹ como estándar interno y 10 μ L de 5- α -colestano a una concentración de 7.5 mg mL⁻¹, y se guardaron dentro de un congelador a -20°C por 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se maceraron las muestras con una varilla de vidrio en el mismo vial hasta obtener un machacado y se agitaron por 15 minutos en un sonicador (BRANSON 2510, Danbury, USA). La mezcla de lípidos-solvente fue filtrada usando una columna con sílica hidratada al 6% para remover compuestos no lipídicos.

Una alícuota del extracto lipídico se evaporó a sequedad con nitrógeno gaseoso (N₂), manteniendo la temperatura de la muestra a una temperatura menor de 30°C. Enseguida, se sometió a la muestra a una reacción de trans-esterificación, en donde se agregó 1 mL de borotrifloruro-metanol al 10% por 15 minutos a una temperatura de 90°C, y se dejó enfriar. Después, se agregó 1 mL de hexano y se agitó, después se centrifugó a 447.2 g por 5 minutos a 5°C. La muestra se separó en dos fases, la parte superior conteniendo el hexano con los ácidos grasos metilesteres. Se descartó la parte inferior (impurezas+metanol+borotrifloruro). La muestra se lavó agregando 2 mL de agua bi-destilada, se agitó en Vortex y centrifugó a 447.2 g por 5 minutos a 5°C, y se descartó nuevamente la fase inferior. Se almacenó la muestra a -20°C hasta que se congeló el agua. Después se recuperaron los FAME en el hexano y transfirieron a un vial ámbar de 2 mL, y se almacenaron a -20°C hasta su inyección en un cromatógrafo de gases (CG-FID).

Los FAME se analizaron en un CG Agilent Technologies 6890N con detector de ionización de flama (FID), utilizando una columna capilar DB-23 (50% Cianopropil-50% metilpolisiloxano) de 30 m de longitud x 0.25 μ m de espesor de

película x 0.25 mm de diámetro interno, utilizando helio como gas acarreador a un flujo de 0.8 mL min⁻¹ y una rampa de temperatura de 110-220°C. La identificación de los FAME se realizó comparando el tiempo de retención de la muestra con los estándares y la cuantificación con base en el estándar interno de la muestra, como se describe en Arjona *et al.* (2008).

Lípidos totales. Se realizó un segundo análisis de lípidos, ahora usando la extracción en frío con la mezcla de cloroformo-metanol. Para este análisis, previamente se colocaron tubos de borosilicato de 10 mL en un horno con temperatura controlada a 80°C por 24 horas, hasta llevarlos a peso constante. Se colocaron los tubos en un desecador y se dejaron enfriar durante 1 hora, registrándose el peso de cada tubo. Posteriormente, se agregaron 2 mL del extracto lipídico y se evaporaron a sequedad con gas nitrógeno. Se colocaron los tubos nuevamente en el horno a 30°C por 24 h. Después de transcurrido ese tiempo, se pesó el tubo con la fracción lipídica sin solvente, y por diferencia con el peso inicial del tubo vacío se calculó el valor de lípidos totales.

Carotenoides. Del extracto lipídico se tomó 1 mL, el cual se puso en un vial de cristal de 2 mL de capacidad, y se evaporó a sequedad con gas nitrógeno. La muestra seca se resuspendió en 1 mL de acetona grado HPLC, se sonicó la mezcla, y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo Scientifics, Vantaa, Finland) a longitudes de onda de 470, 653 y 666 nm. Los carotenoides totales fueron calculados según lo establecido por Tolasa *et al.* (2005).

Los tipos de pigmentos liposolubles se midieron por HPLC utilizando el método descrito por Vidussi *et al.* (1996). Se utilizó una columna Agilent Zorbax SB C8 column (4.6×150 mm, 5 µm tamaño de partícula) y estándares (Sigma) para la cuantificación e identificación de los pigmentos particulares.

Esteroles. Las muestras para esta determinación se tomaron del mismo extracto de lípidos de donde se hizo la determinación de FAME en las harinas. Los extractos se evaporaron a sequedad en un evaporador centrífugo al vacío (JOUAN RCT90, Saint-Herblain, Francia), a una temperatura no mayor a 30°C. Se esterificaron las

muestras como se describe en Palacios *et al.* (2007), agregando a cada muestra 2000 μl de metóxido de Sodio 0.5 M en metanol, con agitación constante por 90 minutos a temperatura ambiente. Se agregó 1200 μl de hexano más 2 mL de agua previamente extraída con hexano y se agitó por 10 minutos.

Posteriormente se centrifugaron a 447.2 g por 5 min. a 5°C. La muestra se separó en dos fases, desechándose la parte inferior (metanol + sodio + impurezas) y dejando únicamente el hexano que contiene los esteroides. Después se procedió a realizar lavados agregando 2 mL de agua previamente extraída con hexano, se agitó en vortex y se centrifugó a 447.2 g por 5 min. a 5°C; siempre descartando la fase inferior (agua + residuos). Se almacenaron las muestras a -20°C hasta que se congeló el agua. Se recuperaron los esteroides más hexano y se transfirieron a viales ámbar de 2 mL y almacenaron a -20°C hasta proceder inyectarlos al CG-FID.

Los esteroides se analizaron en un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies 6890N con FID, utilizando una columna capilar (RESTEK Rtx-65, Barcelona, España) de Silica fundida (Crossbond 65%-difenil-35% dimetil polisiloxano) de 15 m de longitud x 0.25 μm de espesor de película x 0.25 mm de diámetro interno, marca Restek, empleando hidrógeno como gas acarreador a presión constante de 50 psi y una rampa de temperatura de 50-260°C. La identificación de los esteroides se realizó comparando el tiempo de retención del cromatograma de la muestra con los estándares y la cuantificación con base en el estándar interno de la muestra.

Clases de lípidos. Las distintas clases de lípidos fueron separadas y cuantificadas por cromatografía en capa fina con detección por ionización de flama por medio de un Iatroscan TLC/FID MK-5, siguiendo la metodología descrita en Palacios *et al.* (2007). Se colocó 1 mL del extracto de lípidos en viales ámbar y se procedió a evaporar utilizando burbujeo constante de nitrógeno, el volumen final fue de aproximadamente 0.25 mL; una vez evaporadas, se tomó una alícuota para su análisis. Las muestras se analizaron en chromarods S-III previamente hidratados en una cámara con humedad al 7%, utilizando una fase móvil compuesta de hexano:

acetato de etilo: dietil eter: ácido fórmico (91:6:3:1) durante 30 min. Los chromatods fueron leídos a 30 cm min^{-1} con un flujo de hidrógeno de 160 mL min^{-1} y de aire de 2000 mL min^{-1} . La identificación se hizo por comparación de los tiempos de retención contra los de estándares externos específicos para cada clase (Sigma, St. Louis, USA), y la concentración se calculó basándose en las áreas de los estándares externos generadas en los cromatogramas.

Metales pesados. Muestras de liofilizado y harinas se transfirieron a tubos de teflón y se digirieron con 70% de ácido nítrico y 30% peróxido de hidrógeno en un horno de microondas (Marte 5x, CEM, Matthew, NC, EE.UU.). La concentración total de mercurio, cadmio y plomo se cuantificaron utilizando un sistema de hidruro (HG 3000, GBC, Australia) acoplado a un espectrofotómetro de absorción atómica (XplorAA, GBC, Braeside, Australia). La técnica de vapor frío se usó para el mercurio, y la generación de hidruro para cadmio y plomo (Tsalev *et al.*, 2000). Los valores analíticos estuvieron dentro del rango de valores certificados, y la recuperación de los metales se estimó como $\geq 90\%$.

Productos de oxidación de lípidos. El contenido de hidroperóxidos (HPO) se estimó del extracto de cloroformo–metanol por el método de tiocianato férrico (Mihaljevic *et al.*, 1996), cuya reacción fue leída en espectrofotómetro a una longitud de onda de 505 nm, usando hidroperóxido de cumeno como referencia. El malondialdehído (MDA) fue medido por espectrofotometría usando el kit comercial MDA–586 (OxisResearch Inc. Portland, Oregon, EU) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El MDA fue cuantificado mediante la reacción con un agente cromogénico (N–metil–2– fenilindol) que causó una intensa coloración (carbocianina) y que tiene un máximo de absorción a 586 nm. El material de referencia utilizado en esta prueba fue 1,1,3,3–tetrametoxipropano.

6.1.4 Análisis estadístico

Se llevó a cabo el análisis de normalidad y homocedasticidad de varianzas de los datos utilizando las pruebas de Lillieford y Bartlett (Ott, 1992; Sokal, 1995). Los datos presentaron un comportamiento normal y sus varianzas fueron homogéneas, por lo que se les analizó mediante un ANOVA bifactorial para comparar entre materias primas y el proceso de producción. Cuando existieron diferencias significativas, se realizó la comparación de medias de Tukey, con un nivel de confianza del 95%. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el software Statistica 8.0 considerando, como valores significativos de P, aquellos menores que 0.05 (Zar, 1984).

6.2 Objetivo particular 2. Sustitución de la harina de pescado en alimentos para camarón

6.2.1 Organismos y sistema de cultivo

Bioensayo de crecimiento. Se llevó a cabo este experimento en el Laboratorio de Nutrición Experimental del CIBNOR. Se utilizaron juveniles de camarón *L. vannamei* que fueron aclimatados al manejo y condiciones del laboratorio por 4 semanas dentro de tanques de fibra de vidrio con capacidad de 1,500 L, a una temperatura de 27°C y salinidad de 39‰; alimentados dos veces al día (10:00 y 17:00h), dando el 50% de la ración en la mañana y el otro 50% por la tarde.

El sistema de cultivo consistió en acuarios de fibra de vidrio con una capacidad de 60 L (34 x 55 x 38cm) que se abastecen de agua de mar filtrada a través de filtros de arena, de cartucho (10, 5 y 1 μm) y de luz ultravioleta. Cada acuario estuvo equipado con piedras de aireación que permiten oxigenar el agua con la ayuda de mangueras de plástico alimentadas por un soplador de 5 HP. Los acuarios se cubrieron con una malla mosquitera para evitar la fuga de organismos.

La temperatura del agua en los acuarios se controló con calentadores sumergibles de 150W con precisión de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$. La iluminación del sistema experimental se hizo con lámparas de neón controladas con un temporizador a fin de mantener una fotofase de 12h de luz, a partir de las 6:00 AM a lo largo del experimento.

Bioensayo de digestibilidad. Para éste se usaron camarones con peso promedio de 9.5 ± 0.1 g, los cuales estaban distribuidos en acuarios de fibra de vidrio (45 acuarios en total) como los descritos antes, a una densidad de 4 animales por acuario. Los acuarios de cada tratamiento fueron distribuidos aleatoriamente en la unidad experimental. Diariamente se monitorearon los parámetros fisicoquímicos del agua de los acuarios como temperatura y oxígeno disuelto, y salinidad semanalmente. Se realizó la limpieza de los acuarios por con un sifón, eliminando exoesqueletos de mudas, organismos muertos, heces excretadas durante la noche y restos de alimento, y se hizo un recambio del 60% del volumen total de agua.

Estas operaciones se realizaron por la mañana antes de ofrecer la primera alimentación; los organismos se alimentaron a las 9:00, 13:00 y 17:00 h, procurando dejar una pequeña cantidad excedente (aproximadamente el 5% de la biomasa en cada acuario). Los camarones fueron aclimatados durante 7 días a los alimentos con óxido crómico (marcador inerte) antes de iniciar la colecta de heces.

6.2.2 Formulación y fabricación de alimentos

La formulación de los alimentos se realizó con el programa Nutrion^{MR}, a fin de cubrir los requerimientos nutricionales del camarón. En la formulación de los alimentos experimentales, se empleó la base de datos generada con los resultados de la composición química proximal de los distintos ingredientes a utilizar en el alimento control y las harinas de subproductos. Los alimentos se elaboraron en la Planta de Alimentos del CIBNOR basándose en el método reportado en Civera y Guillaume (1989).

Los macroingredientes (harina integral de trigo, pasta de soya y harina de pescado) se pulverizaron y tamizaron individualmente a 250 μm . Se mezclaron primero los macroingredientes secos en una mezcladora vertical con capacidad de 1.5 L por un periodo de 10 minutos. Aparte, se hizo una premezcla de los microingredientes (ácido algínico, vitamina C, cloruro de colina, premezclas de vitaminas y minerales), mismo que se mezclaron por 10 min. Posteriormente, se mezclaron los macroingredientes con los microingredientes por 10 minutos más. Paralelamente, con la ayuda de una cuchara se mezclaron manualmente la lecitina de soya y el BHT, y se incorporaron a la mezcla de ingredientes secos, mezclando por 5 minutos. Una vez pasado ese tiempo, se agregó agua a temperatura ambiente, a razón de aproximadamente 35% del peso de los ingredientes sólidos. La masa resultante se extruyó en dos ocasiones en un molino de carne de 3/4 HP equipado con un dado de 2.0 mm de diámetro. La primera extrusión se hizo de forma rápida para texturizar la masa, y la otra más lenta para dar forma y compactación, cortando los espaguetis resultantes manualmente con la ayuda de una espátula (Figura 14) fin de obtener pellets de aprox. 0.5 cm de longitud, mismos que fueron secados en una estufa a 45°C con ventilación hasta que el contenido de humedad fuera de 9-10%. Posteriormente, los alimentos se embolsaron, etiquetaron y se almacenaron en refrigeración (4°C) hasta su uso.



Figura 14. Extruido y cortado de pellets para el bioensayo de crecimiento

6.2.3 Diseño experimental

Bioensayo de crecimiento. Se diseñaron 6 alimentos para camarón donde se sustituyó totalmente la harina y el aceite de pescado, con las harinas producidas a partir de vísceras de calamar, vísceras de hacha y macarela, cocidas y secadas. Además, se utilizó un alimento comercial (sin aceite de pescado) y un alimento control producido con harina de sardina. A continuación se enlistan los alimentos utilizados en el bioensayo de crecimiento (la composición de ingredientes se muestra en la Tabla IX).

1. Alimento control (32% PC, 6.2% lípidos), con harina de sardina (HS).
2. Alimento con sustitución total de HS por harina de vísceras de hacha secadas.
3. Alimento con sustitución total de HS por harina de vísceras de hacha cocidas.

4. Alimento con sustitución total de HS por harina de vísceras de calamar secadas.
5. Alimento con sustitución total de HS por harina de vísceras de calamar cocidas.
6. Alimento con sustitución total de HS por harina de macarela entera secada.
7. Alimento con sustitución total de HS por harina de macarela entera cocida.
8. Alimento comercial PURINA (Camaronina 35% PC).

El bioensayo de crecimiento duró 45 días, durante los cuales se realizaron biometrías al inicio y cada 15 días. Cada tratamiento alimenticio contó con cuatro réplicas. El experimento se inició con 360 camarones seleccionados con base en su peso (0.3 g promedio), que se distribuyeron de forma aleatoria en 36 acuarios a una densidad de 10 camarones por acuario.

Durante el bioensayo las variables ambientales como temperatura y oxígeno disuelto fueron monitoreadas diariamente ($27\pm 0.3^{\circ}\text{C}$, $6\pm 0.5\text{ mg L}^{-1}$, respectivamente), como se muestra en la Figura 15, y salinidad semanalmente ($37\pm 0.5\%$). El fotoperiodo se controló a 12:12 h luz: oscuridad. Se tomaron muestras de agua en acuarios de cada tratamiento a 1, 15, 30 y 45 días de iniciado el experimento, para la determinación de nitritos, nitratos y amonio, mismos que fueron analizados siguiendo las técnicas de Strickland y Parsons (1972) adaptadas según el Manual de Métodos de Lachat Instruments con los métodos QuickChem No. 31-107-04-1A para nitritos y nitratos, y el método No. 31-107-06-1B para el amonio.

Tabla IX. Composición en ingredientes (g 100g⁻¹ de materia fresca) de los alimentos elaborados para el bioensayo de crecimiento con camarones (Exp. LV1302-C).

Ingredientes	1	2	3	4	5	6	7
H. de pescado ¹	32.00	--	--	--	--	--	--
H. experimental ²	--	32.0	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00
H. integral de trigo ³	42.18	46.68	29.38	30.68	31.48	31.48	27.28
Pasta de soya ⁴	17.5	13.00	30.30	29.00	28.20	28.20	32.40
Ácido algínico ⁵	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Lecitina de soya ⁶	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Prem. de vitaminas ⁷	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80	1.80
FDS ⁸	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Prem. de minerales ⁹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Cloruro de colina ¹⁰	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamina C ¹¹	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
BHT ¹²	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

¹Sardina Monterrey, Conservera San Carlos, Puerto San Carlos, B.C.S., México. ²Elaboradas en el Laboratorio de Nutrición Acuícola, CIBNOR. ³Central de Abastos de La Paz, B.C.S., México. ⁴Promotora Industrial Acuasistemas, S.A. de C.V. La Paz, B.C.S., México. ⁵Sigma-Aldrich 180947-05031-1, St. Louis, MO, EUA. ⁶Restaurant vegetariano Rey Sol, La Paz, B.C.S., México. ⁷VITCRU1301: Acetato de vitamina A, 15000 IU; D3, 7500 IU; E, 400 mg; K₃, 20 mg; Tiamina monohidrato, 150 mg; riboflavina, 100 mg; piridoxina HCl, 50 mg; ácido pantoténico, 100 mg; niacina, 300 mg; biotina, 1 mg; inositol, 500 mg; ácido fólico, 20 mg; cianocobalamina, 0.1 mg. ⁸Fosfato dibásico de Sodio, SIGMA-ALDRICH # cat. S0876, Sigma Co. St. Louis, MO, EUA. ⁹MINCRU1301, 62% agente activo (g/kg alimento): MgSO₄·7H₂O, 0.5; ZnSO₄·7H₂O, 0.09; KCl, 0.5; MnCl₂·4H₂O, 0.0234; CuCl₂·2H₂O, 0.005; KI, 0.5; CoCl₂·6H₂O, 0.0025. ¹⁰35% agente activo, ICN # cat. ICN101386 ICN Biomedicals Inc., Aurora, OH, EUA. ¹¹ROCHE, D. F., México. ¹²Butil-hidroxi-tolueno, ICN # cat. 101162, ICN Biomedicals Inc., Aurora, OH, EUA.



Figura 15. Monitoreo de temperatura y oxígeno disuelto en los acuarios.

Al inicio del bioensayo, el alimento se suministró a razón del 15% de la biomasa total de los organismos en cada acuario, y posteriormente, se ajustó en función del consumo diario, a manera de que siempre hubiera un excedente. El alimento se distribuyó en dos raciones diarias (50% 10:00 am y 50% 17:00 pm). El consumo aparente de alimento fue cuantificado por apreciación visual. Las mudas y las heces se extrajeron de los acuarios todos los días por la mañana (09:00) y posteriormente se realizaba un recambio de agua equivalente al 80% del volumen total.

Bioensayo de digestibilidad. Para determinar la digestibilidad de los ingredientes (harinas de subproductos) se utilizó el método de Cho y Slinger (1979) para lo cual se elaboró una premezcla de referencia. El alimento de referencia estuvo compuesto en 100% de esta premezcla, mientras que los seis alimentos restantes estuvieron compuestos por 70% de la premezcla de referencia y 30% de cada una

de las harinas experimentales, esta para determinar la digestibilidad de los ingredientes. Para determinar la digestibilidad de los alimentos del bioensayo de crecimiento, se elaboraron 6 alimentos con la misma metodología y formulación que los del bioensayo de crecimiento, y simplemente se sustituyó 1% del harina de trigo integral por óxido crómico como marcador, en total se evaluaron 15 alimentos, cada uno con 3 réplicas.

Las heces se colectaron con sifón tres veces al día en cada acuario utilizando una manguera de plástico de 5 mm de diámetro (Figura 16) y en un período no mayor a los 90 min después de cada alimentación. Las heces colectadas se enjuagaron ligeramente con agua destilada, y se congelaron hasta completar la cantidad necesaria (15 g heces húmedas por acuario), y posteriormente se congelaron a -80°C y liofilizaron durante aprox. 72 h. Los análisis químicos de óxido crómico y nutrientes de alimentos y heces se realizarán al menos por triplicado, siguiendo los métodos de Furukawa y Tsukahara (1966) y la AOAC (2005).



Figura 16. Colecta de heces de camarón (a) y apariencia de heces con óxido crómico (b).

6.2.4 Criterios de evaluación

Bioensayo de crecimiento. Los organismos fueron pesados individualmente en una balanza (OHAUS^{MR}, QT-200) con una precisión de 0.001 g, eliminando el exceso de agua del cuerpo del camarón por medio de papel absorbente. Se calcularon los índices zootécnicos y de utilización del alimento más comunes, usando las fórmulas que se describen a continuación:

Supervivencia =

$$(\text{No. final de organismos} / \text{No. inicial de organismos}) \times 100 \quad (1)$$

Consumo aparente de alimento =

$$\text{Alimento suministrado} - \text{Alimento consumido}^* \quad (2)$$

*Estimación visual del peso alimento residual en los acuarios

Factor de conversión alimenticia (FCA) =

$$\text{Alimento aparente consumido (g)} - \text{Incremento de peso corregido} \quad (3)$$

Incremento de peso corregido =

$$[\text{Biomasa final} + (((\text{Peso final} + \text{Peso inicial}) / 2) \times \text{No de muertos})] - \text{Biomasa inicial.} \quad (4)$$

Eficiencia proteica =

$$\text{Incremento de peso corregido (g)} / \text{Proteína aparente consumida (g)} \quad (5)$$

Bioensayo de digestibilidad. Los coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDA) de la materia seca (DAMS), de proteína (DAP) del alimento de referencia fueron calculados usando las siguientes ecuaciones (Cho y Slinger, 1979):

$$\% \text{ DAMS} = 100 - 100 (\% \text{ Cr en alimento} / \% \text{ Cr en heces}) \quad (6)$$

$$\% \text{ DAP} = 100 - 100 (\% \text{ Cr en alimento} / \% \text{ Cr en heces}) \times (\% \text{ PC en heces} / \% \text{ PC en alimento}) \quad (7)$$

Donde: Cr = óxido crómico; PC = % de proteína cruda.

Para el caso de los ingredientes experimentales (IE), los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS), de la proteína (DAP) se calcularon usando las siguientes ecuaciones (Bureau y Hua, 2006):

$$\% \text{ DAMS} = \text{DAMS en alimento de prueba} + [(\text{DAMS alimento de prueba} - \text{DAMS alimento de referencia}) \times (0.7 \times \text{MS en alimento de referencia} / 0.3 \times \text{MS IE})] \quad (8)$$

$$\% \text{ DAPIE} = \text{DAP en alimento de prueba} + [(\text{DAP en alimento de prueba} - \text{DAP en alimento de referencia}) \times (0.7 \times \text{PC en alimento de referencia} / 0.3 \times \text{PC IE})] \quad (9)$$

Donde: IE = ingrediente experimental; MS = % de materia seca, PC = % de proteína cruda (base húmeda).

6.2.5 Análisis de muestras

Bioensayo de crecimiento. Para realizar los análisis químicos en músculo de camarón, se seleccionaron 3 organismos de cada acuario (12 por tratamiento) en estadio de intermuda C, y se congeló a -20°C. Posteriormente, con ayuda de un bisturí, se hizo un corte transversal del primer segmento abdominal, sobre un bloque de hielo para evitar que se descongelara el tejido. Se pesó 100 mg de músculo en una balanza analítica y se colocó dentro de un vial con 6 mL de solución Folch. Las extracciones y determinaciones se realizaron por triplicado como se describe en la sección de análisis. El resto del músculo fue liofilizado y utilizado para análisis de proteína cruda.

Además de los análisis de composición bioquímica, se realizaron análisis microbiológicos al final del bioensayo, para lo cual se utilizaron 3 organismos de cada tratamiento, los cuales fueron homogenizados juntos para conformar una mezcla de donde se obtuvieron las muestras analíticas. La determinación de

coliformes totales se hizo de acuerdo a la Norma NMX-AA-42-1987 adaptada. La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera:

Se inocularon una serie de 10 alícuotas en medio lactosado de doble concentración y 1 mL y 0.1 mL de muestra en medio lactosado de simple concentración. Estas se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35 ± 1 °C. Se hizo la primera revisión a las 24 ± 2 h. Se registró como reacción positiva aquellos tubos que presentaron efervescencia, turbidez y/o formación de gas en el interior del tubo invertido (Durham) lo que indicó crecimiento bacteriano. Aquellos tubos que no mostraron ninguno de los cambios antes mencionados se consideran negativos. Los tubos negativos se reincubaron hasta cumplir 48 ± 3 h y se realizó la segunda revisión a las 48 ± 3 h, y se registró como reacción positiva lo señalado para esto anteriormente. Aquellos tubos que no mostraron ninguno de los cambios antes mencionados se consideran negativos y se desecharon.

Las muestras preparadas para coliformes totales también se usaron para analizar bacterias Heterótrofas marinas, hongos y levadura, y conteo de bacterias del género *Vibrio* utilizando la técnica de cuenta de colonias por inoculación en superficie por dispersión con triángulo de vidrio. Para esto se tomó 0.1 mL de muestra debidamente homogenizada (dilución 10:1) y se inocularon en placas de agar de acuerdo al análisis requerido, dispersando la muestra sobre la caja con un triángulo de vidrio, las cuales se incubaron por 48 horas a una temperatura de 35 ± 1 °C. Se registraron todas las colonias que crecieron sobre los respectivos medios de cultivo. Los medios de cultivo empleados fueron: agar Sabouraud (Levaduras), agar TCBS (Bacterias género *Vibrio*), y Agar 2216 (Bacterias heterótrofas marinas).

Bioensayo de digestibilidad. El óxido crómico se utilizó como marcador inerte, en virtud de que permite desarrollar pruebas de digestibilidad sin necesidad de coleccionar la totalidad de la excretas de los animales. La técnica para cuantificar el porcentaje de óxido crómico (Furukawa y Tsukahara, 1966) se realizó pesando por sextuplicado 50 mg de las muestras de alimentos y heces finamente molidas, las cuales se colocaran en tubos de digestión aforados a 100 mL, adicionando 5 mL de

ácido nítrico HNO₃ (90%) por tubo. Los tubos se colocaron en un monoblock de digestión (AMI 500, Scientific Pty Ltd., Australia, CA) a 120°C de temperatura por 90 min; la primera etapa del proceso concluye con un cambio a color verdoso esmeralda claro de la solución. Con los tubos ya fríos, se adicionaron 3 mL de ácido perclórico (70%) iniciando con ello una segunda digestión a 203°C durante 120 min (tiempo durante el cual la solución debe virar del color verde inicial a un amarillo limón). Al final de la reacción, y con los tubos fríos, se observa un anillo rojo en la superficie de la solución. Por último, se utilizaron matraces volumétricos de 100 mL (conteniendo la solución final de la digestión) los cuales se aforaron con agua destilada. Se tomaron muestras de la solución aforada y se leyó su absorbancia a 350 nm en un espectrofotómetro Beckman DU640 (Brea, CA, EUA).

Los cálculos para obtener la concentración de óxido crómico en las muestras se desarrollaron con la siguiente fórmula:

$$X = ((Y - 0.0032) / 0.2089) \quad (10)$$

Los valores 0.0032 de la ordenada al origen y 0.2089 de la pendiente de una línea recta son constantes. En donde:

X = cantidad de óxido de cromo presente en la muestra; Y = absorbancia

$$\text{En donde: \% Oxido crómico} = 100 \times (X / A) \quad (11)$$

A = Peso de la muestra

6.2.6 Análisis estadístico

Se llevó a cabo el análisis de normalidad y homocedasticidad de varianzas de los datos utilizando las pruebas de Lillieford y Bartlett (Ott, 1992; Sokal, 1995). Los datos que presentaron un comportamiento normal y sus varianzas fueron homogéneas se analizaron mediante ANOVA, para comparar los parámetros zootécnicos, de utilización del alimento, composición de músculo y hepatopáncreas,

asi como de los coeficientes de digestibilidad, de. Cuando existieron diferencias significativas, se realizó la comparación de medias de Tukey, con un nivel de confianza del 95%. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el software Statistica 8.0 considerando, como valores signifactivos de P, aquellos menores que 0.05 (Zar, 1984).

6.3 Objetivo particular 3. Inclusión de harinas de subproductos en alimentos para gallina

6.3.1 Aves en producción

Se llevó a cabo un experimento con gallinas de postura en la unidad avícola de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS). Se utilizaron 108 gallinas de la raza Bovans white de aprox. 28 semanas de edad, propiedad de la UABCS. Las gallinas ya estaban habituadas a las instalaciones y al alimento control, por lo que no fue necesario un periodo de adaptación.

6.3.2 Fabricación de alimentos

La UABCS proporcionó alrededor de 400 kg de alimento, con el cual diariamente alimentan a las gallinas de postura y que sirvió como alimento control. La composición de ingredientes de este alimento se muestra en la Tabla X. A partir de este alimento se fabricaron 8 alimentos experimentales, los cuales contenían 5% de harinas experimentales y 95% del alimento control, por lo que no fue necesario hacer una formulación, sino que simplemente se consideró a las harinas experimentales como un aditivo.

Para fabricar los alimentos experimentales se colocaron 9.5 kg del alimento control en una batidora con capacidad para 20 kg y se inició el mezclado a baja velocidad añadiendo gradualmente 0.5 kg de harina de subproductos; una vez vertida esta cantidad, se continuó mezclando por 10 min. Al final de la fabricación, cada uno de los alimentos se dividió en tres lotes, uno de los cuales se llevó a la unidad avícola para su uso, mientras que los otros dos se guardaron en refrigeración a 4°C para ser usado posteriormente.

Tabla X. Composición de ingredientes de alimento control UABCS para gallina.

Ingrediente	Nivel de inclusión (%)
Maíz (grano)	53.0
Pasta de soya	26.0
Suplemento comercial	3.0
Sebo bovino	6.8
Calcio (granulado)	10.6
DL-Metionina	0.6

6.3.3 Diseño experimental y condiciones de producción

Se diseñaron 8 alimentos experimentales para gallina donde se adicionó 5% de harinas de subproductos producidas a partir de vísceras de calamar, vísceras de hacha, cabezas de camarón y macarela, todas ellas producidas por cocción-secado y solamente secado. No se usó harina ni aceite de pescado en la elaboración del alimento control. A continuación se enlistan los alimentos utilizados en el experimento con gallinas de postura:

1. Alimento control (Sin harina ni aceite de pescado).
2. Alimento con 5% de harina de vísceras de hacha secadas.
3. Alimento con 5% de harina de vísceras de hacha cocidas.
4. Alimento con 5% de harina de vísceras de calamar secadas.
5. Alimento con 5% de harina de vísceras de calamar cocidas.
6. Alimento con 5% de harina de cabezas de camarón secadas.
7. Alimento con 5% de harina de cabezas de camarón cocidas.
8. Alimento con 5% de harina de macarela entera secada.
9. Alimento con 5% de harina de macarela entera cocida.

El bioensayo duró 21 días, midiéndose diariamente el consumo de alimento y la producción por tratamiento, y una vez por semana se pesó a todos los individuos, y se pesó y midió cada uno de los huevos del día. Cada tratamiento contó con cuatro réplicas, que fueron jaulas de 30 cm de ancho, 45 cm de alto y 45 cm de profundidad, cada una de ellas con tres gallinas (Figura 17). Las jaulas estuvieron equipadas con comederos de canaleta y con separadores de acrílico para evitar que los alimentos se mezclaran. También se contó con bebederos automáticos de tazón.

La alimentación se llevó a cabo ofreciendo 70% de la ración a las 9:00 am, y el 30% restante a las 5:00 pm. La temperatura media en la caseta fue de 29°C, y se manejó un fotoperiodo de 16 horas luz (6:00 am a 10:00 pm).



Figura 17. Unidad experimental en granja avícola de la UABCS.

6.3.4 Criterios de evaluación

Las gallinas, alimentos y producción diaria se pesaron en una balanza comercial de acero inoxidable (TORREY, modelo LEQ: 5/10); mientras que los huevos fueron pesados individualmente en una balanza (OHAUS, QT-200) con una precisión de 0.001 g. Se calcularon los índices zootécnicos y de utilización del alimento más comunes, usando las fórmulas que se describen a continuación:

Postura (%)=

$$\text{(Número de huevos puestos / Número de gallinas)} \times 100 \quad (12)$$

Producción diaria (kg día⁻¹)=

$$\text{Producción total de huevo (kg) / Duración del bioensayo (días)} \quad (13)$$

Consumo diario (g día⁻¹)=

$$\frac{\text{(Alimento consumido total (g) / Duración del bioensayo (días))}}{\text{Número de gallinas}} \quad (14)$$

Factor de conversión alimenticia (FCA):

$$\text{Producción de huevo (kg) / Alimento consumido (kg)} \quad (15)$$

Al finalizar el experimento se llevó a cabo un panel de evaluación sensorial de los huevos producidos, el cual contó con 60 personas, no entrenadas, quienes consumían huevo al menos 1 vez por semana. Se les pidió a los panelistas que probaran una porción de un huevo cocido (en agua por 12 min) de cada tratamiento, y diera un valor de 1 (equivalente a desagrado) a 5 (equivalente a satisfacción) según su apreciación de olor, color sabor y consistencia del huevo (Figura 18). También se les solicitó evaluar la coloración de la yema cruda con base en la escala de color del abanico DSM (Figura 19), que va de un valor de 1, que es un color amarillo pálido, hasta 15, que equivale a un color naranja intenso.



Figura 18. Evaluación de características sensoriales de huevo cocido.



Figura 19. Valoración de color de yema en huevo crudo con abanico de colores.

6.3.5 Toma de muestras para análisis bioquímicos

Para realizar los análisis de lípidos en yema de huevo, se seleccionaron 3 huevos del día 21 de cada tratamiento. Posteriormente, con ayuda de una pipeta Pasteur, se perforó la yema, y se succionó, vaciando de 200 a 300 mg dentro de un vial con 6 mL de solución Folch. Las extracciones y determinaciones se realizaron por triplicado, como se describe en la sección de análisis. Para los análisis proximales fue necesario liofilizar siete huevos de cada tratamiento.

6.3.6 Análisis estadístico

Se llevó a cabo el análisis de normalidad y homocedasticidad de varianzas de los datos utilizando las pruebas de Lillieford y Bartlett (Ott, 1992; Sokal, 1995). Los datos presentaron un comportamiento normal y sus varianzas fueron homogéneas se analizaron mediante ANOVA, así como con la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, de los resultados de utilización del alimento y composición de huevo. Los resultados del análisis sensorial se hizo una comparación múltiple de muestras independientes mediante ANOVA No paramétrica de Kruskal-Wallis. Los análisis se llevaron a cabo utilizando el software Statistica 8.0 considerando un valor de significancia menor a 0.05 (Zar, 1984).

7. RESULTADOS.

7.1 Objetivo particular 1. Composición bioquímica de harinas procesadas

7.1.1 *Químico proximal*

La macarela entera cruda presentó el mayor contenido de proteína (67%) (Tabla XI), seguida por las cabezas de camarón café (63%) y vísceras de calamar (53%), siendo las vísceras de hacha las de menor contenido de proteína (50%). No obstante, la harina de macarela secada también presentó menos proteína (proteína después del proceso de secado = 53%) en comparación con la materia prima cruda. Un efecto similar se observó en las harinas de cabezas de camarón café, con un pequeño decremento significativo a 59% de proteína en la harina secada y a 54% en harina cocida tal como se puede apreciar por la interacción significativa, el efecto del procesado no fue generalizado dado que no hubo diferencias en el contenido de proteína entre las vísceras de hacha y calamar crudas con respecto a las harinas elaboradas por secado y cocción, incluso hubo un ligero incremento para la harina de hacha secada. El extracto etéreo (EE) en materias primas crudas fue más alto en vísceras de calamar (18.5%), seguido de macarela (14.5%), vísceras de hacha (6.4%) y cabezas de camarón (4.5%). Tal como lo muestra la interacción significativa, el procesamiento actuó de diversas maneras entre las materias primas, la cocción redujo el EE en 20% en la harina de macarela y en 15% en la de vísceras de calamar. Por otro lado, la cocción no afectó de manera significativa el EE en vísceras de hacha y cabezas de camarón, mientras que se observó un incremento del EE en las harinas producidas por secado en comparación a la materia prima cruda. El contenido de fibra cruda fue bajo en casi todas las materias primas (<1%), excepto en cabezas de camarón (8.6%). Por efecto de la cocción se observó un aumento significativo del 46% en el contenido de fibra en la harina de cabezas de camarón. Por otra parte, en la harina de macarela cocida la fibra no fue detectable, aun cuando sí lo fue en el material crudo y la harina secada.

Tabla XI. Composición proximal (%) y energía bruta en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Humedad							
Crudo	69.7±0.1 ^c	77.3±0.2 ^a	70.7±0.3 ^b	77.3±0.1 ^a			
Harina secada	6.7±0.3 ^e	7.5±0.2 ^d	7.6±0.2 ^d	6.1±0.1 ^e	**	**	**
Harina cocida	6.7±0.1 ^e	6.6±0.2 ^e	7.0±0.2 ^{de}	5.6±0.2 ^f			
Proteína cruda							
Crudo	66.8±0.3 ^a	50.1±0.1 ^f	52.6±0.3 ^{de}	62.8±0.3 ^b			
Harina secada	52.5±0.2 ^{de}	52.7±0.3 ^e	52.1±0.4 ^e	59.4±0.2 ^c	**	**	**
Harina cocida	47.4±0.2 ^g	49.9±0.3 ^f	52.7±0.2 ^{de}	53.5±0.3 ^d			
Extracto etéreo							
Crudo	14.5±0.1 ^e	6.4±0.1 ^h	18.5±0.2 ^b	4.5±0.2 ^{ij}			
Harina secada	16.0±0.1 ^c	8.2±0.1 ^g	23.5±0.2 ^a	5.0±0.1 ⁱ	**	**	**
Harina cocida	11.8±0.2 ^f	6.7±0.1 ^h	15.4±0.1 ^d	4.8±0.2 ^j			
Fibra cruda							
Crudo	0.2±0.01 ^{def}	0.1±0.01 ^{ef}	0.7±0.2 ^c	8.6±0.3 ^b			
Harina secada	0.3±0.01 ^{def}	0.5±0.1 ^{cde}	0.7±0.1 ^c	8.6±0.2 ^b	**	**	**
Harina cocida	ND	0.4±0.1 ^{cde}	0.5±0.1 ^{cd}	12.6±0.2 ^a			
Cenizas							
Crudo	9.7±0.1 ^f	20.9±0.2 ^c	6.9±0.1 ^h	20.8±0.2 ^c			
Harina secada	9.0±0.1 ^g	21.1±0.2 ^c	6.9±0.1 ^h	22.3±0.2 ^b	**	**	**
Harina cocida	10.9±0.1 ^e	18.9±0.1 ^d	6.4±0.1 ^h	26.2±0.1 ^a			
E. L. N.¹							
Crudo	8.8	22.7	21.3	3.3			
Harina secada	22.2	17.5	16.8	4.7			
Harina cocida	29.9	24.1	25.0	2.8	-	-	-
Energía bruta (kcal/g)							
Crudo	5.2±0.02 ^b	4.0±0.01 ^c	5.5±0.01 ^a	3.8±0.03 ^{cd}			
Harina secada	5.2±0.01 ^b	3.9±0.01 ^c	5.3±0.03 ^{ab}	3.8±0.04 ^{cd}	**	*	NS
Harina cocida	5.1±0.01 ^b	4.1±0.01 ^c	5.2±0.02 ^b	3.7±0.01 ^c			

Resultados en peso seco, excepto humedad (medias ± DE; $n = 3$). ¹Extracto libre de nitrógeno, sin análisis estadístico. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

El contenido de cenizas fue similar en las vísceras de hacha y cabezas de camarón crudas (~20%), seguidas de macarela (9.7%) y vísceras de calamar (6.9%). Tal como lo indica la interacción, las cenizas disminuyeron significativamente en un 9% en la harina cocida de vísceras de hacha, en contraste con lo sucedido en harinas cocidas de cabezas de camarón y macarela, en donde aumentó en un 26% y 12%, respectivamente.

Las vísceras de calamar mostraron un contenido significativamente mayor de energía bruta, seguidas por la macarela, las vísceras de hacha y cabezas de camarón. En cuanto al efecto de los procesos de producción de harina, sólo hubo una ligera disminución significativa del 5.5% en las harinas de vísceras de calamar cocidas.

7.1.2 Lípidos totales

Los resultados de lípidos totales (Tabla XII) en las materias primas crudas mostraron valores relativamente similares a los de extracto etéreo en vísceras de hacha (7.4% y 6.4%) y vísceras de calamar (20.4% y 18.5%), pero valores más bajos en macarela (11.7% y 14.5%) y más altos en cabezas de camarón (9.1% y 5.0%). En la comparación de procesos de producción de harina se observó una pérdida significativa de lípidos debido a la cocción (13-40%) en todas las materias primas. Por otro lado, en la harinas secadas los valores se mantuvieron similares al de la materia prima cruda, excepto en vísceras de calamar, que disminuyó en un 15%.

7.1.3 Clases de lípidos

La composición lipídica de la macarela cruda se caracterizó por 22% triacilglicéridos (TAG), 4% diacilglicéridos (DAG), 7% ácidos grasos libres (AGL), 11% esteroides libres (ESL), 3% esteroides esterificados (ESE) y 50% fosfolípidos (FL), además niveles indetectables de lípidos polares no identificados (LPN), como lo muestra la Tabla XII. La cocción disminuyó los TAG a 1% y los FL a 20% de los lípidos totales, probablemente hidrolizándolos y produciendo monoacilglicéridos (MAG) y LPN, que incrementaron a 11% y 41%, respectivamente. Los DAG y AGL permanecieron similares a los encontrados en la macarela cruda. Los ESE disminuyeron a niveles no detectables después de la cocción, mientras que los ESL incrementaron a 12%. Así mismo, en la macarela secada, los TAG también disminuyeron de 23% a 14%, los FL de 50% a 29%, y los ESE de 5% a 2%.

El proceso de degradación de lípidos no fue igual para los otros subproductos, los cuales tuvieron menores niveles de TAG que la macarela cruda. Las vísceras de calamar crudas tuvieron 13% de TAG, las vísceras de hacha 12% y las cabezas de camarón 7%. Los niveles de TAG disminuyeron significativamente con la cocción y el secado, excepto en las cabezas de camarón. La hidrólisis de TAG y FL mostró afectar de manera similar ya sea por secado o por cocción,

aumentando los AGL por ambos métodos, como resultado de esta hidrólisis. Sin embargo, las variaciones en las clases de lípidos no siguen el mismo patrón por efecto del secado o la cocción dependiendo del tipo de materia prima. Por ejemplo, las vísceras de calamar crudas tienen 53% de FL que disminuyen a 20% debido a la cocción, y a 39% debido al secado, mientras que en vísceras de hacha crudas hay 39% de FL que no fueron afectados por el secado, pero sí disminuyeron a 20% por la cocción. Las cabezas de camarón tenían 66% de FL que disminuyen con ambos métodos (a 38% por cocción y a 25% por secado). Como en macarela, la disminución de FL durante la cocción es atribuible a hidrólisis, dado que DAG y MAG, productos de la hidrólisis de TAG o FL, también incrementaron en vísceras de calamar y de hacha cocidas. En contraste, tanto la cocción como el secado produjeron MAG y DAG, reduciendo los TAG y FL a niveles similares en las cabezas de camarón.

La concentración de ESL fue significativamente menor en vísceras de hacha y más alta en vísceras de calamar (11 y 21% de los lípidos totales), pero los ESE fueron mayores en vísceras de hacha crudas (12%) y cabezas de camarón (8%), y más bajos en macarela (3%). Los ESE disminuyeron a niveles por debajo del límite detectable en las dos harinas de vísceras de hacha, y en vísceras de calamar y macarela cocidas, con un aumento colateral de los ESL, probablemente resultado de hidrólisis.

Tabla XII. Clases de lípidos (g 100 g⁻¹) en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela Entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Lípidos totales							
Crudo	11.7±1.0 ^c	7.4±0.4 ^e	20.4±1.1 ^a	9.1±0.5 ^d			
Harina secada	11.8±0.5 ^c	6.9±0.1 ^e	17.0±0.4 ^b	8.8±0.6 ^{de}	**	**	**
Harina cocida	9.7±0.2 ^d	5.5±0.3 ^f	12.2±0.4 ^c	7.9±0.5 ^e			
Triacilglicéridos							
Crudo	2.6±0.5 ^a	0.9±0.1 ^c	2.7±0.1 ^a	0.6±0.1 ^{cd}			
Harina secada	1.6±0.1 ^b	0.1±0.03 ^e	0.4±0.1 ^{de}	0.7±0.3 ^{cd}	**	**	**
Harina cocida	0.1±0.05 ^e	0.1±0.01 ^e	0.1±0.02 ^e	0.8±0.1 ^c			
Diacilglicéridos							
Crudo	0.5±0.1 ^c	0.4±0.1 ^{cd}	2.3±0.4 ^a	0.04±0.01 ^e			
Harina secada	0.2±0.01 ^{de}	6.2±0.02 ^c	0.4±0.04 ^{cd}	0.2±0.1 ^{de}	**	**	**
Harina cocida	0.4±0.1 ^{cd}	7.0±0.1 ^{bc}	1.1±0.1 ^b	0.2±0.1 ^{de}			
Monoacilglicéridos							
Crudo	0.1±0.1 ^d	0.8±0.1 ^b	0.4±0.1 ^c	0.01±0.002 ^d			
Harina secada	0.7±0.03 ^b	0.1±0.1 ^d	0.4±0.1 ^c	0.02±0.01 ^d	**	**	**
Harina cocida	1.1±0.1 ^a	0.3±0.1 ^c	0.3±0.1 ^c	0.07±0.01 ^d			
Ácidos grasos libres							
Crudo	0.8±0.4 ^{cd}	0.3±0.1 ^{ef}	1.7±0.4 ^b	1.3±0.1 ^{bc}			
Harina secada	1.9±0.4 ^b	0.5±0.01 ^{ef}	2.9±0.6 ^a	2.4±0.3 ^{ef}	**	**	**
Harina cocida	0.4±0.1 ^{ef}	0.8±0.1 ^{cd}	0.9±0.2 ^{cd}	1.6±0.2 ^{ef}			
Esteroles esterificados							
Crudo	0.4±0.1 ^c	0.9±0.2 ^a	0.7±0.1 ^b	0.8±0.1 ^a			
Harina secada	0.2±0.1 ^d	ND	0.2±0.03 ^d	0.6±0.2 ^b	**	**	**
Harina cocida	ND	ND	ND	0.4±0.1 ^d			
Esteroles libres							
Crudo	1.3±0.2 ^b	0.8±0.03 ^c	2.3±0.4 ^a	1.9±0.1 ^{ab}			
Harina secada	1.2±0.1 ^b	1.3±0.03 ^b	1.9±0.4 ^{ab}	1.2±0.2 ^b	**	**	**
Harina cocida	1.8±0.2 ^b	1.6±0.1 ^b	1.5±0.2 ^b	1.5±0.2 ^b			
Fosfolípidos							
Crudo	5.8±0.7 ^b	2.9±0.1 ^{cd}	10.8±0.9 ^a	6.0±0.5 ^b			
Harina secada	3.4±0.1 ^c	2.7±0.2 ^{cd}	5.4±0.6 ^b	2.2±0.5 ^d	**	**	**
Harina cocida	1.9±0.3 ^{de}	1.1±0.1 ^e	1.1±0.02 ^e	2.9±0.2 ^{cd}			
Lípidos polares no identificados							
Crudo	ND	0.1±0.1 ^d	ND	0.3±0.1 ^d			
Harina secada	2.6±0.2 ^c	2.6±0.2 ^c	5.4±0.5 ^a	0.6±0.3 ^d	**	**	**
Harina cocida	4.0±0.2 ^b	0.5±0.1 ^d	0.5±0.04 ^d	0.5±0.1 ^d			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; *n* = 3). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes (*p* < 0.05). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = *p* < 0.01; * = *p* < 0.05; NS = No significativo.

7.1.4 Esteroles

El esteroles más abundante en todas las muestras analizadas fue el colesterol (Tabla XIII), que fue similar en vísceras de calamar, cabezas de camarón y macarela crudas (90-94% del total de esteroides), y significativamente menor en vísceras de hacha (38%). El dihidrocolesterol fue el segundo esteroles más común (2-7%), excepto en vísceras de hacha, en donde el estigmasterol fue el segundo más abundante (19%), seguido de brassicasterol (13%), fucosterol (11%), campesterol (6%) y β -sitosterol (6%). El fucosterol solo fue detectado en vísceras de hacha y sus harinas; así mismo, el β -sitosterol estuvo ausente en cabezas de camarón y el campesterol en macarela.

Tal como lo muestra la interacción significativa, los procesos de fabricación de harina mostraron diferentes efectos dependiendo de la materia prima empleada, en harinas de vísceras de calamar el contenido de colesterol disminuyó de forma significativa en mayor medida por cocción (50%) que por secado (69%), y en cabezas de camarón disminuyó de forma similar por ambos procesos (68-76%), mientras que no hubo efectos significativos sobre las harinas de hacha y macarela. Así mismo, el fucosterol disminuyó en un 82% por secado y en un 76% por cocción en harina de hacha; en harina de calamar el brassicasterol se redujo 50% por secado y 25% por cocción, el estigmasterol disminuyó sólo por secado (50%); y el β -sitosterol no llegó a los niveles detectables en harinas de cabezas de camarón.

Las concentraciones de esteroides totales disminuyeron por efecto del secado en las harinas de macarela (12%) y hacha (19%); la cocción afectó en mayor grado la harina de calamar, disminuyendo el 48% de los esteroides totales, mientras que el secado solo disminuyó el 28%. Por otro lado, ambos procesos tuvieron efectos similares sobre las harina de cabezas de camarón, disminuyendo el 26-30% del total de esteroides.

Tabla XIII. Esteroles (g 100 g⁻¹) en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Dihidrocolesterol							
Crudo	0.08±0.01 ^e	0.2±0.03 ^{cd}	0.2±0.02 ^{ab}	0.06±0.02 ^e			
Harina secada	0.06±0.01 ^e	0.2±0.02 ^{bc}	0.1±0.04 ^e	0.06±0.01 ^e	**	**	**
Harina cocida	0.08±0.02 ^e	0.3±0.02 ^a	0.2±0.03 ^d	0.1±0.01 ^e			
Colesterol							
Crudo	1.6±0.2 ^{bc}	0.6±0.01 ^d	2.6±0.3 ^a	2.5±0.1 ^a			
Harina secada	1.3±0.1 ^c	0.5±0.01 ^d	1.8±0.4 ^b	1.7±0.3 ^{bc}	**	**	*
Harina cocida	1.6±0.1 ^{bc}	0.6±0.04 ^d	1.3±0.1 ^c	1.9±0.3 ^b			
Brassicasterol							
Crudo	0.02±0.01 ^{de}	0.2±0.01 ^a	0.04±0.01 ^c	0.02±0.01 ^{de}			
Harina secada	0.2±0.04 ^{de}	0.2±0.01 ^b	0.02±0.01 ^{de}	0.01±0.005 ^e	**	**	**
Harina cocida	0.01±0.04 ^e	0.2±0.01 ^a	0.03±0.01 ^d	0.01±0.002 ^e			
Campesterol							
Crudo	ND	0.1±0.01 ^a	0.05±0.001 ^c	ND			
Harina secada	ND	0.1±0.01 ^{ab}	0.06±0.05 ^c	ND	**	*	**
Harina cocida	ND	0.1±0.04 ^a	0.04±0.01 ^c	ND			
Estigmasterol							
Crudo	0.05±0.02 ^b	0.3±0.02 ^a	0.04±0.007 ^b	0.04±0.003 ^b			
Harina secada	0.04±0.01 ^b	0.3±0.01 ^a	0.03±0.01 ^b	0.05±0.03 ^b	**	**	**
Harina cocida	0.04±0.01 ^b	0.3±0.03 ^a	0.03±0.002 ^b	0.03±0.005 ^b			
β-sitosterol							
Crudo	0.01±0.002 ^e	0.1±0.01 ^b	0.02±0.002 ^{cd}	0.04±0.01 ^c			
Harina secada	0.01±0.003 ^e	0.1±0.01 ^b	0.02±0.01 ^{cd}	ND	**	**	**
Harina cocida	0.03±0.01 ^{cd}	0.1±0.01 ^a	0.01±0.002 ^e	ND			
Fucoesterol							
Crudo	ND	0.2±0.01 ^a	ND	ND			
Harina secada	ND	0.03±0.003 ^c	ND	ND	**	**	**
Harina cocida	ND	0.04±0.004 ^b	ND	ND			
Esteroles totales							
Crudo	1.7±0.2 ^{bc}	1.6±0.1 ^{bc}	2.9±0.3 ^a	2.7±0.1 ^a			
Harina secada	1.5±0.1 ^d	1.3±0.03 ^d	2.1±0.5 ^b	1.9±0.3 ^{bc}	**	**	**
Harina cocida	1.8±0.2 ^{bc}	1.6±0.1 ^{bc}	1.5±0.2 ^{cd}	2.0±0.3 ^b			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; $n = 3$). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

7.1.5 Ácidos grasos

Los niveles más altos de DHA (22:6n-3) fueron encontrados en macarela (1.9 g 100 g⁻¹ o 21% del total de ácidos grasos) y vísceras de calamar (1.9 g 100 g⁻¹ o 18% del total) crudas (Tabla XIV), mientras que se obtuvieron niveles de DHA ligeramente inferiores (1.5 g 100 g⁻¹ o 20% del total) en vísceras de hacha y aún más bajos en cabezas de camarón (0.26 g 100 g⁻¹ o 3% del total). Los niveles de EPA (20:5n-3) más bajos fueron encontrados en macarela cruda (0.7 g 100 g⁻¹ o 8% del total) y cabezas de camarón (0.9 g 100 g⁻¹ o 13% del total), y los más altos en vísceras de calamar (1.7 g 100 g⁻¹ o 15% del total), seguido de vísceras de hacha (1.3 g 100 g⁻¹ o 17% del total). La mayor concentración de ARA (20:4n-6) fue en cabezas de camarón (0.6 g 100 g⁻¹ o 8% del total) y el resto de los subproductos crudos fueron inferiores y similares entre sí (~0.3 g 100 g⁻¹ o 3-5% del total). El mayor nivel de HUFA fue encontrado en vísceras de calamar (4 g 100g⁻¹ o 37% del total), seguido de vísceras de hacha (3.1 g 100g⁻¹ o 42% del total) y macarela (3.0 g 100g⁻¹ o 32% del total), y el menor contenido lo presentó las cabezas de camarón (2.3 g 100g⁻¹ o 32% del total).

El efecto de los procesos de fabricación de harina variaron de acuerdo a la materia prima utilizada, tal como lo señala la interacción significativa. El contenido de HUFA fue reducido significativamente en macarela por ambos métodos de producción de harina, alrededor de 50% en relación con el contenido en el material crudo. La cocción redujo significativamente (25%) los HUFA en vísceras de hacha, mientras que el secado disminuyó los HUFA (25%) en vísceras de calamar. Por otro lado, el contenido de HUFA en harinas de cabezas de camarón no fueron modificados de manera significativa en relación con el contenido en el material crudo. No hubo efectos significativos de los proceso sobre el contenido de SFA, MUFA y PUFA.

Tabla XIV. Ácidos grasos (g 100 g⁻¹) en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
16:1n-7							
Crudo	0.27±0.02 ^e	0.51±0.03 ^{bc}	0.64±0.02 ^a	0.56±0.04 ^{ab}			
Harina secada	0.21±0.01 ^e	0.50±0.04 ^{bc}	0.45±0.03 ^{cd}	0.56±0.03 ^b	**	**	**
Harina cocida	0.25±0.02 ^e	0.41±0.02 ^{cde}	0.44±0.02 ^{cd}	0.55±0.04 ^b			
18:1n-9							
Crudo	1.59±0.1 ^a	0.24±0.02 ^e	0.98±0.03 ^c	0.69±0.05 ^d			
Harina secada	1.28±0.1 ^b	0.24±0.02 ^e	0.70±0.05 ^d	0.77±0.1 ^d	**	**	**
Harina cocida	1.22±0.1 ^b	0.32±0.01 ^e	0.60±0.05 ^d	0.78±0.1 ^d			
18:1n-7							
Crudo	0.40±0.02 ^{bc}	0.40±0.02 ^{bc}	0.39±0.01 ^{bcd}	0.54±0.04 ^a			
Harina secada	0.32±0.02 ^{de}	0.40±0.02 ^{bc}	0.28±0.01 ^e	0.48±0.05 ^{ab}	**	**	**
Harina cocida	0.35±0.02 ^{cde}	0.35±0.01 ^{cde}	0.27±0.02 ^e	0.47±0.02 ^a			
18:2n-6							
Crudo	0.15±0.01 ^a	0.08±0.01 ^{de}	0.11±0.01 ^{bcd}	0.01±0.001 ^f			
Harina secada	0.11±0.01 ^{bc}	0.09±0.01 ^{cde}	0.08±0.01 ^{de}	0.01±0.001 ^f	**	**	**
Harina cocida	0.13±0.03 ^{ab}	0.07±0.01 ^e	0.07±0.01 ^e	0.01±0.001 ^f			
18:3n-3							
Crudo	0.07±0.01 ^a	0.04±0.01 ^{bc}	0.08±0.01 ^a	0.02±0.002 ^d			
Harina secada	0.05±0.01 ^b	0.04±0.01 ^{bc}	0.05±0.01 ^b	0.02±0.006 ^d	**	**	**
Harina cocida	0.05±0.01 ^b	0.03±0.01 ^c	0.05±0.01 ^b	0.02±0.003 ^d			
20:4n-6							
Crudo	0.33±0.01 ^{bc}	0.36±0.03 ^b	0.36±0.02 ^b	0.63±0.04 ^a			
Harina secada	0.22±0.01 ^{de}	0.33±0.03 ^{bc}	0.26±0.02 ^{cd}	0.58±0.08 ^a	**	**	**
Harina cocida	0.14±0.01 ^e	0.27±0.01 ^{bcd}	0.34±0.03 ^{bc}	0.61±0.04 ^a			
20:5n-3							
Crudo	0.74±0.01 ^d	1.27±0.1 ^b	1.69±0.1 ^a	0.94±0.04 ^d			
Harina secada	0.47±0.03 ^e	1.27±0.1 ^b	1.18±0.1 ^{bc}	0.82±0.1 ^d	**	**	**
Harina cocida	0.41±0.02 ^e	0.96±0.04 ^{cd}	1.40±0.1 ^b	0.85±0.01 ^d			
22:6n-3							
Crudo	1.97±0.01 ^a	1.49±0.1 ^b	1.94±0.1 ^a	0.26±0.01 ^e			
Harina secada	1.17±0.07 ^c	1.45±0.1 ^b	1.54±0.1 ^b	0.25±0.01 ^e	**	**	**
Harina cocida	0.92±0.03 ^d	1.12±0.04 ^{cd}	1.89±0.1 ^a	0.25±0.01 ^e			

Continuación Tabla XIV.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
SFA totales							
Crudo	3.54±0.2 ^{ab}	2.77±0.2 ^{cd}	3.82±0.1 ^a	2.70±0.2 ^{cde}			
Harina secada	2.82±0.2 ^{cd}	2.60±0.2 ^{cde}	2.69±0.2 ^{cde}	2.57±0.3 ^{de}	**	**	**
Harina cocida	2.81±0.2 ^{cd}	2.19±0.1 ^e	3.12±0.1 ^{bc}	2.52±0.1 ^{de}			
PUFA totales							
Crudo	0.35±0.01 ^b	0.20±0.01 ^d	0.41±0.01 ^a	0.04±0.004 ^d			
Harina secada	0.27±0.01 ^c	0.20±0.01 ^d	0.30±0.02 ^c	0.03±0.001 ^d	**	**	**
Harina cocida	0.27±0.04 ^c	0.17±0.01 ^d	0.31±0.03 ^{bc}	0.03±0.004 ^d			
HUFA totales							
Crudo	3.04±0.02 ^c	3.12±0.2 ^{bc}	3.99±0.1 ^a	2.33±0.1 ^d			
Harina secada	1.86±0.1 ^{de}	3.05±0.3 ^c	2.97±0.2 ^c	2.09±0.3 ^d	**	**	**
Harina cocida	1.46±0.1 ^e	2.35±0.1 ^d	3.64±0.3 ^{ab}	2.16±0.1 ^d			
Ácidos grasos totales							
Crudo	9.54±0.4 ^{ab}	7.46±0.5 ^d	10.89±0.3 ^a	7.37±0.4 ^d			
Harina secada	7.02±0.4 ^{de}	7.16±0.5 ^{de}	7.86±0.5 ^{cd}	6.88±0.6 ^{de}	**	**	**
Harina cocida	6.65±0.4 ^{de}	5.93±0.2 ^e	8.94±0.7 ^{bc}	7.08±0.6 ^{de}			
Relación n-3:n-6							
Crudo	4.8±0.1 ^c	5.6±0.05 ^{ab}	5.7±0.1 ^{ab}	1.8±0.04 ^e			
Harina secada	4.0±0.4 ^d	5.3±0.02 ^b	6.0±0.2 ^a	1.9±0.02 ^e	**	**	**
Harina cocida	4.0±0.01 ^d	5.7±0.1 ^{ab}	5.9±0.01 ^a	1.8±0.1 ^e			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; $n = 3$). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

7.1.6 Carotenoides

El contenido de carotenoides totales en vísceras de calamar fue el más alto (19 mg 100 g⁻¹), seguido de vísceras de hacha y cabezas de camarón (13-14 mg 100 g⁻¹), y muy por debajo de estos se encontró la macarela (0.5 mg 100 g⁻¹; Tabla XV). La cocción disminuyó el contenido de carotenoides totales en las harinas de vísceras de calamar y hacha en aproximadamente 60%, y 32% en cabezas de camarón. Así mismo, el secado sin cocción redujo de 28 a 39% los carotenoides totales en casi todas las harinas, excepto en macarela, en donde el bajo contenido de carotenoides permaneció similar entre el material crudo y ambas harinas.

En cuanto a pigmentos particulares se puede mencionar que las cabezas de camarón fue el único subproducto que presentó astaxantina esterificada, que correspondió a más de la mitad de los carotenoides totales. La astaxantina esterificada mostró ser más estable durante la cocción que la astaxantina libre, ya que en forma esterificada disminuyó 29% en comparación a 65% de la forma libre. En vísceras de hacha se detectó astaxantina libre y fucoxantina, las cuales fueron afectadas de forma similar por los dos procesos de fabricación de harina, disminuyendo alrededor de 30-53%; así mismo, también contenían cantaxantina, pero esta disminuyó significativamente más por cocción (72%) que por secado (54%).

Tabla XV. Carotenoides (mg 100 g⁻¹) en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Visceras de hacha	Visceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Carotenoides totales							
Crudo	0.5±0.1 ^f	14.1±1.2 ^b	18.8±1.3 ^a	12.7±0.8 ^c			
Harina secada	1.0±0.2 ^f	8.9±0.3 ^d	11.5±0.9 ^c	9.1±0.6 ^d	**	**	**
Harina cocida	0.5±0.1 ^f	5.5±0.5 ^e	7.6±0.8 ^d	8.6±0.6 ^d			
Fucoxantina							
Crudo	ND	1.7±0.2 ^a	ND	ND			
Harina secada	ND	1.0±0.1 ^b	ND	ND	**	*	**
Harina cocida	ND	0.8±0.3 ^b	ND	ND			
Astaxantina libre							
Crudo	ND	4.0±0.2 ^e	13.4±2.1 ^a	8.3±0.4 ^b			
Harina secada	ND	2.6±0.3 ^f	5.4±0.7 ^d	4.2±0.2 ^e	**	**	**
Harina cocida	ND	2.8±0.2 ^f	7.4±0.2 ^c	2.9±0.3 ^f			
Astaxantina esterificada							
Crudo	ND	ND	ND	8.9±0.3 ^a			
Harina secada	ND	ND	ND	6.5±0.1 ^b	**	*	**
Harina cocida	ND	ND	ND	6.3±0.3 ^b			
Cantaxantina							
Crudo	ND	9.5±0.6 ^a	ND	ND			
Harina secada	ND	4.4±0.3 ^b	ND	ND	**	**	**
Harina cocida	ND	2.7±0.2 ^c	ND	ND			
Xantofila							
Crudo	0.9±0.2 ^a	ND	ND	ND			
Harina secada	0.7±0.2 ^a	ND	ND	ND	**	*	*
Harina cocida	0.3±0.1 ^b	ND	ND	ND			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; $n = 3$). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

7.1.7 Metales pesados

Como se muestra en la Tabla XVI, el mercurio fue el metal pesado más abundante en las materias primas, y los niveles más altos los presentaron las vísceras de hacha y la macarela (30-36 mg 100 g⁻¹), seguidos de las vísceras de calamar (22 mg 100 g⁻¹), siendo el más bajo el de cabezas de camarón (2 mg 100 g⁻¹). El contenido de cadmio fue más alto en vísceras de hacha (30 mg 100 g⁻¹), seguido de vísceras de calamar (18 mg 100 g⁻¹), y por último cabezas de camarón (3 mg 100 g⁻¹) y macarela (<1 mg 100 g⁻¹). En general, el plomo fue más escaso que mercurio y cadmio, y las vísceras de hacha presentaron la mayor concentración (1.5 mg 100 g⁻¹), mientras que las vísceras de calamar la menor (0.8 mg 100 g⁻¹).

La cocción disminuyó significativamente el mercurio en vísceras de hacha (59%), el cadmio en cabezas de camarón (61%) y en vísceras de hacha (54%), y el plomo en cabezas de camarón (15%), vísceras de hacha (47%), macarela (64%) y vísceras de calamar (88%). Sin embargo, el secado también redujo los niveles de mercurio de forma similar a la cocción, excepto en macarela, donde hubo una mayor reducción por efecto del secado (61%). El secado también redujo el cadmio en vísceras de hacha (20%), e incluso más intensamente que la cocción en vísceras de calamar (21%).

Tabla XVI. Metales pesados (mg 100 g⁻¹) en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Mercurio							
Crudo	30.2±0.1 ^a	36.5±0.1 ^a	22.2±0.1 ^b	2.5±0.1 ^e			
Harina secada	11.7±0.1 ^d	13.0±0.1 ^{cd}	18.4±0.2 ^{bc}	2.9±0.1 ^e	**	**	**
Harina cocida	33.6±0.2 ^a	15.1±0.2 ^{cd}	19.7±0.7 ^{bc}	4.5±0.1 ^e			
Cadmio							
Crudo	0.07±0.01 ^h	30.3±0.02 ^a	18.3±0.02 ^d	2.6±0.03 ^f			
Harina secada	0.02±0.01 ^h	24.4±0.05 ^b	14.4±0.02 ^e	2.5±0.03 ^f	**	**	**
Harina cocida	0.03±0.01 ^h	19.7±0.04 ^c	19.0±0.08 ^{cd}	1.0±0.01 ^g			
Plomo							
Crudo	1.1±0.01 ^c	1.5±0.02 ^a	0.8±0.01 ^d	1.3±0.01 ^b			
Harina secada	0.4±0.03 ^e	1.6±0.03 ^a	0.9±0.04 ^d	1.1±0.01 ^c	**	**	**
Harina cocida	0.4±0.04 ^e	0.8±0.02 ^d	0.1±0.01 ^f	1.1±0.2 ^c			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; $n = 3$). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

7.1.8 Productos de oxidación de lípidos

Ambos procesos de producción de harina incrementaron al menos al doble el contenido de hidroperóxidos (HPO) en harinas de macarela, sin embargo, en otras harinas y tal como lo muestra la interacción significativa, los efectos particulares de la cocción y el secado fueron diferenciales dependiendo del tipo de materia prima. Así, se observó un incremento de los HPO de más del doble en la harina cocida de vísceras de hacha en comparación al material crudo, sin efecto por secado. En contraste, el secado aumentó significativamente (60%) los HPO en harina de vísceras de calamar, sin efecto por cocción. Los HPO disminuyeron significativamente (42-58%) por efecto de ambos procesos en relación con el contenido inicial de las cabezas de camarón.

El contenido de malondialdehído (MDA) fue significativamente más alto (60%) en harina de macarela secada en comparación con la macarela cruda, mientras que el contenido de MDA en macarela cocida se triplicó por efecto de la cocción (Tabla XVII), nuevamente y tal como lo muestra la interacción significativa, los efectos de la cocción y el secado difieren para los distintos tipos de materias primas. El MDA en vísceras de hacha disminuyó por el secado (32%), mientras que aumentó por la cocción (43%); por otro lado, en vísceras de calamar disminuyó significativamente por la cocción (65%), en contraste, mientras que aumentó por el secado (28%). Los niveles de MDA no fueron significativamente afectados por los procesos de elaboración en las harinas de cabezas de camarón.

Tabla XVII. Productos de oxidación en subproductos marinos crudos, y sus harinas secadas, o cocidas.

	Macarela entera	Vísceras de hacha	Vísceras de calamar	Cabezas de camarón	ANOVA		
					SM	EP	SMxEP
Hidroperóxidos (mg 100 g⁻¹)							
Crudo	13.0±5.0 ^d	60.4±14.6 ^b	36.2±5.7 ^c	33.2±1.9 ^c			
Harina secada	45.6±2.9 ^c	64.5±7.2 ^b	58.0±8.1 ^b	19.2±1.9 ^d	**	**	**
Harina cocida	34.0±2.4 ^c	130±3.9 ^a	33.3±11.1 ^c	13.9±7.9 ^d			
Malondialdehído (nmol 100 g⁻¹)							
Crudo	327±8.0 ^e	320±15.9 ^e	1,319±72.0 ^b	50.1±8.2 ^g			
Harina secada	523±26.1 ^d	218±25.0 ^f	1,696±55.3 ^a	63.8±16.0 ^g	**	**	**
Harina cocida	1,075±39.7 ^c	459±42.9 ^d	270±16.2 ^{ef}	27.5±5.3 ^g			

Resultados en peso seco (Mean ± SD; $n = 3$). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). SM = Subproducto marino; EP = Efecto del proceso; ND = No detectado; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$; NS = No significativo.

7.1.9 Aminoácidos

Se encontró que el proceso de producción de harina afectó los niveles de aminoácidos, en vísceras de hacha los mayores decrementos fueron de treonina (5%) y metionina (17%) por secado, mientras que leucina (20%) y lisina (28%) fueron más reducidos por la cocción. En vísceras de calamar, valina (17%), leucina (31%) y lisina (61%) fueron más disminuidos por cocción que por secado. En macarela, el secado redujo la leucina (22%) y lisina (42%), mientras que la cocción disminuyó la histidina (42%), treonina (7%) y arginina (22%) (Tabla XVIII). Los aminoácidos esenciales más abundantes en las harinas de subproductos fueron treonina (17-23% del total de aminoácidos), leucina (4-8%) y valina (3-5%). Los aminoácidos no fueron analizados en la materia prima cruda.

Tabla XVIII. Aminoácidos (g kg⁻¹) en harinas de subproductos marinos secado o cocidos.

	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Asp	14.2±0.1	14.6±3.3	24.0±3.2	26.3±6.2	23.3±2.9	21.6±1.9
Glu	31.8±0.2	36.8±8.3	43.9±4.2	45.2±5.5	42.6±3.7	37.2±1.5
Ser	64.2±0.5	51.0±9.4	50.8±7.9	63.5±9.3	44.9±10.7	66.4±2.1
His*	24.0±0.2	13.9±0.3	13.6±1.8	11.9±0.6	12.1±5.8	15.3±5.5
Gly	28.4±0.2	26.2±0.1	34.0±1.2	34.5±1.5	25.8±12.6	32.8±1.1
Tre*	114.0±0.9	106.4±2.6	107.4±22.5	113.0±16.2	95.1±6.5	95.2±0.6
Arg*	18.0±0.1	14.1±2.7	13.8±4.1	11.3±0.5	16.8±2.7	14.2±2.7
Ala	14.8±0.1	8.7±1.6	29.0±8.1	23.3±0.3	31.9±2.6	23.1±4.9
Tyr	51.9±0.4	39.3±1.5	25.8±15.5	46.3±13.0	30.1±2.4	30.8±12.0
Met*	13.6±0.1	11.6±0.9	14.9±0.8	17.9±3.1	16.0±1.8	15.0±2.3
Val*	18.7±0.1	19.9±6.3	22.7±7.3	23.6±8.2	27.9±3.1	23.2±6.5
Phe*	11.7±0.1	9.7±2.5	13.0±1.9	12.9±1.5	16.2±0.6	13.4±1.9
Ile*	15.8±0.1	15.1±5.3	20.3±6.8	20.7±7.2	25.8±3.1	21.5±7.0
Leu*	23.4±0.2	30.0±11.1	27.6±9.6	22.1±1.5	39.6±1.4	27.3±8.4
Lys*	3.3±0.1	5.7±0.7	2.5±0.3	1.8±1.3	11.2±5.1	4.3±1.0

Asp = Ácido aspártico; Glu = Ácido glutámico; Ser = Serina; His = Histidina; Gly = Glicina; Tre = Treonina; Arg = Arginina; Ala = Alanina; Tyr = Tirosina; Met = Metionina; Val = Valina; Phe = Fenilalanina; Ile = Isoleucina; Leu = Leucina; Lis = Lisina; *Aminoácidos esenciales.

7.2 Objetivo particular 2. Sustitución de la harina de pescado en alimentos para camarón

7.2.1 Composición de los alimentos

Se encontraron variaciones en proteína cruda de 138 g kg^{-1} y en lípidos de 44 g kg^{-1} entre los alimentos con la mayor y menor concentración de dichos nutrientes (Tabla XIX). El extracto etéreo fue más alto en los alimentos con vísceras de calamar, y más bajo en los de vísceras de hacha. Las cenizas y fibra cruda fueron más altas en el alimento comercial. El menor valor de cenizas lo presentó el alimento con vísceras de calamar cocidas. La mayor diferencia entre alimentos fue en el contenido de carotenoides, altos niveles en los alimentos con vísceras de hacha ($25\text{-}36 \text{ mg kg}^{-1}$) y calamar ($32\text{-}33 \text{ mg kg}^{-1}$) en comparación con los de macarela ($4.4\text{-}7.5 \text{ mg kg}^{-1}$) y alimento control (4.9 mg kg^{-1}), con un contenido ligeramente mayor en el alimento comercial (11 mg kg^{-1}).

La concentración de ácidos grasos de los alimentos se muestra en la Tabla XX. Los ácidos grasos totales fueron significativamente mayores en los alimentos con vísceras de calamar, y mas bajos en los de vísceras de hacha. Los HUFA no siguieron el mismo patrón: los alimentos con vísceras de calamar presentaron el mayor contenido, seguidos del comercial y con macarela secada, después aquellos con vísceras de hacha, y por último los de harina de macarela cocida y control. Las reducciones en HUFA en el alimento con macarela cocida, en comparación al de macarela secada, fueron acompañadas por un incremento significativo en el $18:1n-9$ y $18:2n-6$. El incremento de $18:2n-6$ en el alimento con macarela cocida se pudo deber a un decremento proporcional de HUFA, ya que la concentración de $18:2n-6$ fue de 9.4 g kg^{-1} , inferior a la del alimento con macarela secada (10.3 g kg^{-1}).

El colesterol fue el esteroil más abundante en todos los alimentos (Tabla XXI), no obstante, los alimentos con vísceras de hacha contenían 51-54% menos que el resto. El colesterol en este alimento fue parcialmente sustituido por otros esteroides, como brassicasterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol. El brassicasterol no

se detectó en ningún alimento con harina de pescado y el fucosterol no se detectó ningún alimento, aun cuando estuvo presente en las harinas de vísceras de hacha.

Tabla XIX. Composición proximal (%) de alimentos control, comercial y experimentales para camarón.

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Humedad	9.0±0.1	6.9±0.1	9.8±0.1	9.0±0.1	9.9±0.2	9.1±0.1	9.3±0.1	9.2±0.2
Proteína cruda	35.6±0.3	39.0±0.2	41.5±0.3	43.4±0.1	29.6±0.2	38.5±0.1	35.2±0.4	38.1±0.4
Extracto etéreo	6.0±0.1	7.7±0.3	7.8±0.3	6.3±0.1	5.0±0.2	5.2±0.1	9.3±0.4	8.7±0.1
Fibra cruda	1.6±0.1	4.5±0.2	1.4±0.3	3.2±0.1	1.5±0.1	1.2±0.1	2.5±0.2	1.2±0.2
Cenizas	10.1±0.2	12.1±0.4	7.4±0.1	8.8±0.1	9.7±0.1	9.8±0.1	7.6±0.2	6.8±0.1
E. L. N.¹	46.7	36.7	41.8	38.3	54.3	45.2	45.4	45.1
Energía bruta²	4.1±0.02	4.3±0.02	4.3±0.05	4.3±0.01	4.0±0.03	4.1±0.01	4.4±0.02	4.4±0.04
Carotenoides³	4.9±0.7	11.1±2.0	4.4±2.2	7.5±2.5	36.2±2.7	25.1±5.5	31.6±6.8	32.7±5.6

Expresados en peso seco, excepto humedad; ¹ Extracto libre de nitrógeno; ² kcal kg⁻¹; ³ mg kg⁻¹

Tabla XX. Ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) en alimentos control, comercial y experimentales para camarón.

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
16:0	25.1±0.1	20.5±0.4	21.9±0.4	22.2±0.2	18.2±0.3	18.6±0.1	20.0±0.1	19.7±0.1
18:0	5.7±0.1	5.5±0.4	6.3±0.1	6.5±0.1	4.8±0.2	5.3±0.1	5.1±0.1	5.4±0.1
16:1n-7	5.1±0.1	2.9±0.1	2.3±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1	2.1±0.1	4.7±0.1	3.6±0.1
18:1n-9	16.5±0.1	19.2±0.9	16.0±0.4	17.8±0.4	14.6±0.4	13.3±0.3	13.3±0.2	12.2±0.1
18:1n-7	3.0±0.1	2.4±0.1	3.5±0.1	3.3±0.1	2.5±0.1	2.8±0.1	3.2±0.1	2.8±0.1
18:2n-6	31.1±0.3	28.4±0.7	27.2±0.8	31.5±0.5	37.7±0.6	36.9±0.4	19.2±0.3	22.6±0.1
18:3n-3	3.3±0.1	3.0±0.1	3.4±0.1	3.8±0.1	4.0±0.1	4.4±0.1	2.6±0.1	2.9±0.1
20:4n-6	0.2±0.1	1.0±0.1	1.2±0.1	0.6±0.1	1.5±0.1	1.4±0.1	1.9±0.1	1.9±0.1
20:5n-3	1.2±0.1	3.4±0.1	4.2±0.2	1.6±0.1	4.0±0.2	4.0±0.1	8.8±0.1	8.5±0.2
22:6n-3	0.9±0.1	7.1±0.2	6.5±0.3	3.6±0.2	5.1±0.2	5.2±0.2	10.5±0.1	10.7±0.2
SFA	37.1±0.2	30.4±1.1	32.9±0.5	33.1±0.3	26.2±0.5	27.5±0.5	30.7±0.3	29.9±0.4
MUFA	25.7±0.1	25.9±0.7	23.9±0.7	25.2±0.5	21.0±0.4	20.3±0.4	25.2±0.4	22.4±0.1
PUFA	34.6±0.3	32.1±0.8	31.2±0.8	35.7±0.6	42.0±0.6	41.5±0.5	22.8±0.5	26.5±0.1
HUFA	2.4±0.1	11.5±0.1	11.9±0.6	5.8±0.2	10.6±0.5	10.6±0.4	21.1±0.2	21.1±0.3
TOTAL¹	30.3±1.0	35.4±1.2	38.0±2.7	29.8±1.1	23.9±0.1	23.8±1.4	56.7±1.5	52.8±1.0

¹ g kg⁻¹ de peso seco.

Tabla XXI. Esteroles (% del total de esteroles) en alimentos control, comercial y experimentales para camarón.

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Secada	Cocida	Secada
Dihidrocolesterol	2.5±1.1	ND	8.0±1.0	6.3±0.5	7.9±0.3	7.6±0.7	7.9±1.0	6.2±0.5
Colesterol	76.3±2.3	87.2±1.2	85.6±1.1	88.2±0.7	50.9±0.7	54.3±2.8	84.6±1.3	87.1±0.8
Brassicasterol	ND	ND	ND	ND	10.1±0.2	11.0±0.3	1.1±0.3	1.3±0.1
Campesterol	5.8±2.0	4.1±0.1	1.4±0.1	1.1±0.1	8.1±0.9	7.3±0.4	1.3±0.1	0.8±0.1
Estigmasterol	6.0±0.4	3.6±0.4	2.4±0.2	2.1±0.1	7.9±0.6	7.4±0.5	2.4±0.2	2.0±0.1
β-sitosterol	9.3±1.0	3.3±0.7	2.7±0.1	2.3±0.2	15.2±0.2	12.4±2.0	2.6±0.4	2.6±0.1
Fucoesterol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND = No detectado.

7.2.2 Parámetros zootécnicos y utilización del alimento

La supervivencia del camarón en el ensayo de crecimiento al día 45 fue superior a 90% en la mayoría de los tratamientos, y como lo muestra la Tabla XII, sólo se observaron diferencias significativas con el alimento comercial (77.5%). Los tratamientos experimentales presentaron mayores pesos finales (4.6-6.6 g) en comparación al alimento control y comercial (~3.3 g), excepto hacha secada (3.8 g). Con el tratamiento de calamar cocido se obtuvieron organismos de un gramo más de peso (6.6 g) que los tratamientos con valores más cercanos, como macarela secada y hacha cocida (5.7 g). La mayor tasa de crecimiento se observó en el tratamiento con calamar cocido (1,908%), que presentó el doble del crecimiento del tratamiento control (951%), seguidos por aquellos de los tratamientos de macarela secada (1,706%) y hacha cocidas (1,666%). En general, los tratamientos experimentales presentaron tasas de crecimiento superiores al 1,100%, siendo superiores significativamente a los tratamientos control y comercial.

Los mayores consumos de alimento estuvieron por encima de los 0.2 g por organismo al día, el tratamiento de macarela secada y los de calamar presentaron los valores más altos (0.21-0.25 g); los tratamientos con menor consumo fueron el control (0.11 g) y comercial (0.09 g). Los tratamientos con harinas secadas presentaron los factores de conversión alimenticia más altos, por encima de 1.9, en cambio los tratamiento con cocción presentaron valores inferiores.

El menor factor de conversión se presentó en el alimento comercial, con un valor de 1.31, aunque solo numéricamente, ya que fue similar estadísticamente al control y a los tratamientos de harinas secadas. Los menores valores de eficiencia proteica se presentaron en los tratamientos con calamar (1.60-1.79) y macarela (1.28-1.66). El tratamiento de macarela secada (1.28) fue significativamente menor de todos, así mismo, valores similares se presentaron entre el tratamiento control (1.95), comercial (2.11) y los de hacha (1.97-2.03).

Tabla XXII. Parámetros zootécnicos y de utilización de los alimentos evaluados en el bioensayo de crecimiento con camarón blanco.

	Control	Comercial	Macarela entera		Visceras de hacha		Visceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Supervivencia (%)	96.7±10.6 ^a	77.5±15.0 ^b	98.5±3.8 ^a	92.9±9.5 ^a	97.1±4.9 ^a	98.6±3.8 ^a	95.7±7.9 ^a	95.7±7.9 ^a
Peso final (g)	3.35±0.22 ^e	3.26±0.44 ^e	5.71±0.38 ^b	4.56±0.44 ^{cd}	3.81±0.33 ^{de}	5.67±0.57 ^b	5.08±0.49 ^{bc}	6.55±0.60 ^a
Crecimiento (%)	951±51 ^e	937±123 ^e	1,706±214 ^{ab}	1,293±98 ^{cd}	1,158±133 ^d	1,666±93 ^{ab}	1,476±215 ^{bc}	1,908±134 ^a
Consumo de alimento¹	0.11±0.01 ^d	0.09±0.01 ^d	0.25±0.03 ^a	0.15±0.02 ^c	0.15±0.01 ^c	0.17±0.01 ^c	0.21±0.02 ^b	0.22±0.01 ^{ab}
FCA²	1.58±0.11 ^{bc}	1.31±0.14 ^c	2.13±0.35 ^a	1.54±0.16 ^c	1.91±0.09 ^{ab}	1.40±0.04 ^c	1.99±0.26 ^a	1.63±0.13 ^{bc}
Eficiencia proteica	1.95±0.21 ^{ab}	2.11±0.07 ^a	1.28±0.20 ^d	1.66±0.19 ^c	1.97±0.06 ^{ab}	2.03±0.09 ^{ab}	1.60±0.16 ^c	1.79±0.14 ^c
Mudas	0.013±0.01	0.023±0.02	0.018±0.02	0.022±0.01	0.016±0.01	0.020±0.01	0.017±0.01	0.016±0.01

Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($p < 0.05$). ¹Alimento corregido, g por organismo al día; ²Factor de conversión alimenticia; ³Mudas por organismo al día.

7.2.3 Composición de hepatopáncreas y músculo

El contenido de humedad en hepatopáncreas varió de 667 a 718 g kg⁻¹, y en músculo de 724 a 738 g kg⁻¹, sin diferencias significativas entre tratamientos para ambos tejidos (Tabla XXIII). La proteína en músculo fue de 872 a 886 g kg⁻¹, mientras que en hepatopáncreas fue similar en todos los tratamientos (217 a 305 g kg⁻¹). Los camarones que consumieron el alimento comercial presentaron un contenido de proteína en músculo ligeramente menor (872 g kg⁻¹), pero significativo, en comparación con aquellos que consumieron alimentos con calamar, macarela y hacha cocidas (879-885 g kg⁻¹).

Se encontró una acumulación de lípidos en hepatopáncreas en relación al contenido de lípidos en el alimento. Sin embargo, los lípidos en músculo (107 g kg⁻¹) y hepatopáncreas (340 g kg⁻¹) de los organismos del tratamiento comercial fueron más bajos que los que consumieron el alimento con hacha, a pesar de que este último contenía menos lípidos; mientras que el resto de los tratamientos con subproductos mostraron una mayor acumulación de lípidos en músculo (131-140 g kg⁻¹), mientras que en hepatopáncreas solo sucedió en los alimentos con calamar y macarela (310-413 g kg⁻¹). Los alimentos con hacha y calamar mostraron las concentraciones de carotenoides más altas (25-33 mg kg⁻¹), las cuales causaron una mayor acumulación de estos en hepatopáncreas (44-80 mg kg⁻¹).

Por otro lado, los alimentos basados en harinas de pescado, incluyendo el experimental de macarela, presentaron una menor concentración de carotenoides (4-11 mg kg⁻¹), lo cual produjo una menor acumulación en hepatopáncreas (6-19 mg kg⁻¹) en relación a los que comieron alimentos con harinas de subproductos. Los niveles de carotenoides en músculo de camarones alimentados con subproductos fue bajo (8.3-2.7 mg kg⁻¹), sin embargo, donde se utilizaron las dietas a base de harinas de pescado, no llegaron a niveles detectables.

Tabla XXIII. Composición bioquímica (g kg⁻¹) de hepatopáncreas y músculos de camarones del bioensayo de crecimiento

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Hepatopáncreas								
Humedad	707.3±30.8	703.9±39.3	694.2±21.4	677.7±46.4	718.3±24.1	703.3±56.8	677.5±35.2	692.6±46.5
Proteína	249.7±57.2	305.7±47.2	233.2±82.5	217.9±73.6	221.5±36.7	231.8±35.7	235.1±41.3	276.8±82.2
Lípidos totales	310.1±39.1 ^b	340.3±40.1 ^b	381.2±66.4 ^a	310.0±54.4 ^b	226.4±39.1 ^c	273.4±27.3 ^c	404.1±44.3 ^a	413.6±63.1 ^a
Carotenoides ¹	14.9±3.1 ^{cd}	19.2±3.9 ^{cd}	15.6±2.2 ^{cd}	5.8±1.6 ^d	66.8±4.6 ^a	79.8±5.1 ^a	43.9±3.6 ^b	80.1±5.1 ^a
Músculo								
Humedad	738.4±11.5	723.8±2.9	737.1±8.4	725.8±10.1	742.3±8.9	733.7±11.9	731.4±7.4	725.9±13.1
Proteína	876.0±2.9 ^{cd}	872.9±2.5 ^d	885.8±3.1 ^a	879.8±1.8 ^{bc}	877.0±3.4 ^{bc}	882.9±1.1 ^{ab}	884.2±3.6 ^{ab}	883.8±0.8 ^{ab}
Lípidos totales	126.5±4.5 ^{ab}	106.9±11.2 ^b	131.1±9.2 ^a	135.9±10.9 ^a	128.2±10.4 ^{ab}	140.4±19.5 ^a	131.9±5.7 ^a	140.4±11.6 ^a
Carotenoides ¹	ND	ND	ND	ND	6.5±2.6	8.3±3.7	7.9±3.9	4.7±0.6

Resultados en peso seco (promedio ± DE). Medias compartiendo al menos una literal no son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$); ¹ mg kg⁻¹.

7.2.3 Ácidos grasos en músculo

La composición de ácidos grasos en el músculo del camarón se asemejó mucho al perfil de ácidos grasos en los alimentos. Niveles altos de HUFA fueron encontrados en músculos de ambos tratamientos con calamar (26-30% del total de ácidos grasos), el menor nivel los del alimento control (10%) y niveles intermedios para el resto de los tratamientos (Tabla XXIV). El contenido de DHA en músculos del tratamiento comercial (12%) fue similar a los del alimento con macarela secada, con la diferencia de que el comercial tenía aceite de pescado añadida, mientras que el de macarela secada no. El nivel de EPA más bajo se presentó en músculos del control (4%), pero no fueron significativamente diferentes de lo encontrado en macarela cocida (5%). El ARA también fue más bajo en el alimento control (1%) en comparación al resto de los alimentos (2-3%).

El alimento control provocó una mayor acumulación de PUFA, principalmente 18:2n-6, con un 27%; mientras que el resto oscilaron entre 23 y 14%. El control también presentó el mayor contenido de MUFA (24%), principalmente 18:1n-9, que fue similar al alimento comercial y de macarela cocida; el resto de los tratamiento presentaron un contenido de MUFA menor (17-21%). Hubo una proporción significativamente mayor de SFA en los camarones de los tratamientos control, comercial y ambos con calamar (20.6-21.4%), mientras que los tratamientos con vísceras de hacha y macarela presentaron proporciones significativamente menores (18.7-20.2%). Las mayores concentraciones de ácidos graso totales se presentaron en los tratamientos con vísceras de calamar, control y comercial (82.4-85.6 g kg⁻¹), y menores concentraciones fueron presentadas por el resto de los tratamientos (74.8-80.8 g kg⁻¹).

Tabla XXIV. Ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) en músculo de camarones del bioensayo de crecimiento.

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
16:0	20.6±0.4 ^{ab}	20.7±0.5 ^{ab}	19.4±0.5 ^{cd}	20.2±0.5 ^{bc}	18.7±0.4 ^{de}	19.3±0.7 ^{cd}	20.7±1.0 ^{ab}	21.4±0.5 ^a
18:0	11.3±0.3 ^{bc}	11.4±0.4 ^{bc}	12.1±0.4 ^a	11.8±0.3 ^{ab}	11.5±0.5 ^{bc}	11.9±0.8 ^{ab}	11.0±0.4 ^{bc}	10.8±0.4 ^c
16:1n-9	1.6±0.2 ^{cd}	1.7±0.1 ^{cd}	2.0±0.3 ^{abc}	1.7±0.2 ^{cd}	2.3±0.3 ^{ab}	2.4±0.3 ^a	1.8±0.1 ^{bcd}	1.3±0.4 ^d
18:1n-9	16.5±0.2 ^a	17.0±0.7 ^a	13.1±0.7 ^b	15.9±0.8 ^a	10.3±0.3 ^c	9.4±0.2 ^c	12.2±0.9 ^b	10.4±0.4 ^c
18:1n-7	4.4±0.1 ^a	3.6±0.2 ^b	4.4±0.2 ^a	4.4±0.1 ^a	4.4±0.4 ^a	3.9±0.2 ^b	3.8±0.2 ^b	3.7±0.1 ^b
18:2n-6	26.8±1.0 ^a	15.6±0.8 ^c	14.6±0.4 ^c	22.9±0.6 ^b	22.0±1.0 ^b	21.8±1.8 ^b	15.7±0.7 ^c	13.5±0.6 ^d
18:3n-3	2.0±0.1 ^a	0.7±0.05 ^f	0.9±0.03 ^{ef}	1.7±0.1 ^b	1.1±0.2 ^{cd}	1.4±0.2 ^c	1.0±0.1 ^{de}	0.8±0.1 ^{ef}
20:4n-6	1.3±0.1 ^e	2.5±0.2 ^c	3.0±0.2 ^b	2.0±0.2 ^d	3.4±0.3 ^a	3.4±0.1 ^a	3.0±0.3 ^b	3.4±0.1 ^a
20:5n-3	4.3±0.3 ^d	8.6±0.4 ^c	10.3±0.8 ^{ab}	5.3±0.5 ^d	8.5±0.7 ^c	9.4±0.2 ^{bc}	10.5±0.6 ^{ab}	11.3±0.6 ^a
22:6n-3	4.2±0.4 ^f	11.7±0.4 ^b	11.9±0.5 ^b	7.9±0.5 ^e	9.5±0.3 ^d	10.7±0.5 ^c	12.4±0.2 ^b	14.8±0.7 ^a
SFA	34.4±0.1 ^{ab}	35.0±0.8 ^{ab}	35.5±0.3 ^{ab}	33.8±0.4 ^b	34.3±1.1 ^{ab}	34.1±1.1 ^{ab}	35.0±0.7 ^{ab}	35.8±0.4 ^a
MUFA	24.8±0.3 ^a	23.9±0.9 ^a	21.6±0.7 ^b	24.0±0.9 ^a	18.9±0.7 ^{cd}	17.1±0.3 ^e	20.2±1.0 ^{bc}	18.1±0.5 ^{de}
PUFA	30.6±1.1 ^a	18.0±0.9 ^c	17.4±0.5 ^c	26.7±0.6 ^d	25.0±1.1 ^b	24.9±1.8 ^b	18.7±0.6 ^c	16.3±0.6 ^c
HUFA	9.8±0.8 ^g	22.8±0.7 ^{de}	25.2±1.1 ^{bc}	15.2±1.1 ^f	21.4±1.1 ^e	23.5±0.7 ^{cd}	25.8±0.4 ^b	29.5±1.2 ^a
TOTAL¹	82.4±1.6 ^{ab}	82.8±1.4 ^{ab}	77.6±1.8 ^{cd}	80.8±2.1 ^{bc}	74.8±1.4 ^{de}	77.2±2.8 ^{cd}	82.8±3.9 ^{ab}	85.6±1.9 ^a

Resultados en peso seco (Medias ± DE). Medias compartiendo al menos una literal son estadísticamente similares ($P < 0.05$); ¹ g kg⁻¹.

7.2.4 Esteroles en músculo

Los alimentos que contenían hacha mostraron menores niveles de colesterol (51-54% del total de esteroides), en comparación con los otros alimentos (76-88%; Tabla XXI). Sin embargo, los niveles de colesterol en músculo (Tabla XXV) fueron muy similares (~95-97%) independientemente del alimento, aun si fueron ligeros, pero significativamente más bajos en camarones alimentados con hacha que con el resto de los tratamientos. El estigmasterol fue el segundo esteroide más abundante en músculo (1.0-2.1%), sin diferencias significativas entre tratamientos.

Esteroides como β -sitosterol y campesterol fueron escasos en músculo, pero campesterol fue significativamente más alto en los tratamientos con hacha. No se detectó dihidrocolesterol, brassicasterol y fucosterol en músculos de ningún tratamiento.

7.2.5 Análisis microbiológico

En la Tabla XXVI se muestran los resultados del análisis microbiológico de los camarones completos al final del bioensayo de crecimiento. Se observa que los organismos estaban libres de coliformes, *Vibrio*, *Lactobacillus* y *lactococos*. No obstante se observó variadas concentraciones de bacterias heterótrofas y levaduras.

Tabla XXV. Esteroles (% del total de esteroles) en músculo de camarones del bioensayo de crecimiento.

	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Dihidrocolesterol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Colesterol	95.3±0.7 ^c	97.4±0.8 ^a	96.0±1.6 ^b	96.2±0.3 ^b	95.4±0.7 ^c	95.4±0.7 ^c	96.8±0.5 ^b	97.3±0.1 ^a
Brassicasterol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Campesterol	0.9±0.4 ^b	0.6±0.1 ^d	0.3±0.9 ^e	0.5±0.1 ^{de}	1.6±0.5 ^a	1.6±0.5 ^a	0.6±0.1 ^d	0.4±0.1 ^e
Estigmasterol	2.1±0.2	1.0±0.2	1.0±0.4	1.9±0.1	1.9±0.3	1.8±0.4	1.7±0.1	1.5±0.1
β-sitosterol	1.8±0.4 ^a	1.0±0.3 ^b	1.7±0.7 ^a	1.0±0.1 ^b	1.1±0.3 ^b	1.1±0.5 ^b	0.9±0.2 ^{bc}	0.8±0.1 ^c
Fucoesterol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Resultados expresados en medias ± DE. Medias compartiendo al menos una literal son estadísticamente similares ($P<0.05$)

Tabla XXVI. Análisis microbiológicos de camarones completos del bioensayo de crecimiento.

UFC	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
			Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Coliformes	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vibrio	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Heterótrofas marinas	6x10 ⁶	85x10 ⁶	18x10 ⁶	105x10 ⁶	35x10 ⁶	77x10 ⁶	23x10 ⁶	5x10 ⁶
Levaduras marinas	4x10 ⁹	67x10 ⁶	1x10 ⁹	1x10 ⁹	1x10 ⁹	2x10 ⁹	1x10 ⁹	1x10 ⁹
Lactobacillus	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Lactococos	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

UFC= Unidades formadoras de colonias; ND= No detectado.

7.2.6 Coeficientes de utilización digestiva aparente (CUDA)

Se determinaron los CUDA de los alimentos que incluían las harinas experimentales (Tabla XXVII), así como de las harinas experimentales (Tabla XXVIII). Los CUDA de materia seca en los alimentos experimentales y el control de crecimiento (64-74%) fueron similares o superiores a lo presentado por el alimento de referencia (67%), mientras que el alimento comercial presentó el menor CUDA de materia seca (54%). Así mismo, el alimento elaborado con vísceras de hacha secadas presentó un CUDA de materia seca 4.3% mayor en comparación al alimento elaborado con harina de vísceras de hacha cocidas. Los CUDA de proteína fueron similares para el alimento de referencia, control crecimiento y los dos elaborados con harina de vísceras de hacha (77-81%).

Los mayores CUDA de proteína se presentaron en los alimentos que incluían harinas de vísceras de calamar y macarela entera (87-91%), sin embargo, los que contenían harinas secadas fueron significativamente mayores a los elaborados con harinas cocidas, aproximadamente 4%. El menor CUDA de proteína se presentó en el alimento comercial (66%). Todos los CUDA de lípidos totales fueron superiores al 90%, siendo el del alimento de referencia el más alto (97%) y los de los alimentos control (91%) y comercial (92%) los más bajos. No se presentaron diferencias debidas al proceso de elaboración de la harina.

Los CUDA de MUFA, como 16:1n-7 y 18:1n-9, fueron superiores al 96%; se observó una ligera pero significativa disminución de los CUDA de 18:1n-9 en los alimentos elaborados con harinas de víscera, mientras que lo opuesto se observó con macarela. Los CUDA de 18:2n-6 en todos los alimentos fueron superiores al 99%, mientras que los del 18:3n-3 oscilaron entre 96% y 99%, encontrándose los CUDA más altos en los alimentos control crecimiento y comercial. Los alimentos con calamar presentaron unos de los CUDA más altos para ARA (~84%), en el caso de los alimentos con hacha y macarela, la cocción disminuyó significativamente los CUDA de ARA 16% y 23%, respectivamente; el alimento comercial presentó un CUDA de ARA similar al del alimento con macarela secada (66%), mientras que el

alimento control crecimiento mostró uno aun más bajo (55.1%). Todos los alimentos con harinas experimentales mostraron los CUDA de EPA más altos (>96%), seguidos por el alimento comercial (88%) y el más bajo fue el de control (55%). Todos los CUDA de DHA en alimentos fueron superiores a 94% y no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

En ingredientes, las harinas de macarela y hacha secada presentaron los CUDA de materia seca más elevados (86-89% macarela y 83% hacha secada), mientras que la cocción disminuyó 13% el CUDA de materia seca. Las harinas de calamar presentaron los CUDA más bajos de MS (73-79%). Las harinas de hacha tuvieron CUDA de proteína de 82-83%, mientras que el resto de las harinas mostraron CUDA superiores. Las harinas de calamar y macarela tuvieron los CUDA de lípidos totales más elevados (85-89%), y por debajo de esto se encontraron las harinas de hacha (66-72%).

Los CUDA de 18:2n-6 fueron más elevados en las harinas de hacha y macarela (89-94%), y más bajos en las harinas de calamar, en donde la cocción disminuyó el CUDA en 12% en relación a la harina secada (85%). En el caso del 18:3n-3 los CUDA fueron más elevados en las harinas de calamar y macarela (92-97%), y más bajos en las harinas de hacha, en donde la cocción disminuyó el CUDA en 10% en relación a la harina secada (83%). Las harinas de calamar tuvieron los mayores CUDA de ARA (92-95%), similar a lo encontrado en macarela secada (97%), mientras que la cocción disminuyó en 23% el CUDA. El mismo efecto por cocción en el ARA se encontró en las harinas de hacha (84% en secada y 69% en cocida). La harina de macarela cocida presentó el CUDA de EPA más bajo (91%) y el resto fueron significativamente superiores (95-98%). La harina de hacha secada presentó el menor CUDA de DHA (93%), con valores más elevados en el resto de las harinas (97-100%).

Tabla XXVII. Coeficientes de utilización digestiva aparente (%) de los alimentos del bioensayo de digestibilidad.

	Referencia	Control	Comercial	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
				Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Materia seca	67.0±0.6 ^{cd}	64.2±1.5 ^d	54.3±2.1 ^e	73.8±0.8 ^a	72.8±0.5 ^a	71.9±0.3 ^a	68.8±0.8 ^{bc}	70.9±1.6 ^{ab}	68.7±0.2 ^{bc}
Proteína	78.6±1.1 ^{cd}	76.9±1.6 ^d	66.2±0.7 ^e	90.7±0.6 ^a	87.2±0.6 ^b	80.6±0.3 ^d	79.8±1.0 ^d	90.2±0.7 ^a	87.6±0.4 ^b
Lípidos totales	96.5±2.4 ^a	91.2±2.2 ^b	91.6±1.4 ^b	93.9±0.4 ^{ab}	92.9±1.2 ^{ab}	91.3±1.3 ^b	92.0±0.5 ^{ab}	93.4±1.1 ^{ab}	93.6±0.7 ^{ab}
Ácidos grasos									
16:0	92.6±0.1 ^b	93.4±0.2 ^a	93.2±0.1 ^{ab}	93.8±0.2 ^a	93.2±0.1 ^{ab}	90.7±0.1 ^c	89.7±0.3 ^d	90.4±0.1 ^{cd}	90.9±0.7 ^c
18:0	57.6±1.9 ^{bc}	59.3±1.0 ^b	59.4±0.2 ^b	57.7±1.9 ^{bc}	64.4±1.6 ^a	52.9±0.5 ^{de}	58.9±0.5 ^{bc}	55.8±0.7 ^{cd}	51.9±0.6 ^e
6:1n-7	98.5±0.1 ^{ab}	97.1±0.6 ^{de}	98.7±0.1 ^a	97.8±0.1 ^{bcd}	96.4±0.5 ^e	97.3±0.2 ^d	97.4±0.1 ^d	98.3±0.1 ^{abc}	97.5±0.2 ^{cd}
18:1n-9	98.9±0.1 ^b	99.3±0.1 ^a	99.5±0.1 ^a	97.8±0.1 ^d	98.2±0.1 ^c	97.6±0.1 ^d	97.3±0.2 ^e	98.3±0.1 ^c	97.5±0.1 ^{de}
18:2n-6	99.8±0.1	99.8±0.0	99.8±0.1	99.4±0.1	99.6±0.1	99.6±0.1	99.6±0.1	99.5±0.1	99.4±0.1
18:3n-3	98.3±0.1 ^{bc}	99.4±0.1 ^a	99.3±0.1 ^{ab}	98.2±0.4 ^c	97.7±0.3 ^{cd}	97.1±0.1 ^{de}	96.4±0.4 ^e	98.0±0.7 ^{cd}	97.8±0.4 ^{cd}
ARA	47.5±4.6 ^d	55.1±2.4 ^d	73.1±1.4 ^{bc}	85.6±0.5 ^a	66.3±4.8 ^c	78.0±0.1 ^{ab}	65.6±1.4 ^c	84.7±2.2 ^a	83.9±4.0 ^a
EPA	98.6±0.1 ^a	67.3±5.3 ^c	88.4±1.9 ^b	98.2±0.5 ^a	95.6±1.2 ^a	96.4±0.8 ^a	96.5±0.5 ^a	98.2±0.1 ^a	98.2±0.5 ^a
DHA	98.3±0.3	96.4±4.1	99.1±0.3	99.2±0.6	98.7±0.2	94.8±3.6	97.7±0.7	99.4±0.1	99.7±0.1

Resultados expresados en medias ± DE. Medias compartiendo al menos una literal son estadísticamente similares ($P < 0.05$)

Tabla XXVIII. Coeficientes de utilización digestiva aparente (%) de las harinas experimentales.

	Macarela entera		Vísceras de hacha		Vísceras de calamar	
	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Materia seca	88.7±2.5 ^a	85.5±1.5 ^{ab}	83.0±0.9 ^{ab}	72.5±2.5 ^c	79.4±5.1 ^{bc}	72.5±0.7 ^c
Proteína	108.5±1.5 ^a	101.3±1.6 ^b	83.4±0.8 ^c	81.7±2.7 ^c	107.6±1.7 ^a	100.9±0.9 ^b
Lípidos totales	88.5±1.3 ^a	84.5±4.1 ^a	72.1±6.1 ^b	64.4±3.4 ^b	88.7±2.8 ^a	87.7±2.0 ^a
Ácidos grasos						
16:0	96.8±0.8 ^a	94.6±0.3 ^a	85.7±0.4 ^b	81.8±1.1 ^c	84.8±0.2 ^{bc}	86.8±2.5 ^b
18:0	57.8±4.4 ^{bc}	73.4±3.6 ^a	42.1±1.8 ^d	60.8±1.2 ^b	52.2±2.0 ^c	42.4±1.7 ^d
16:1n-7	94.0±0.3 ^b	87.4±2.7 ^c	94.6±0.8 ^{ab}	94.7±0.4 ^{ab}	97.7±0.1 ^b	99.8±0.5 ^a
18:1n-9	95.2±0.1 ^a	96.5±0.2 ^a	81.2±1.8 ^d	84.9±1.8 ^c	95.6±0.3 ^a	88.6±0.8 ^b
18:2n-6	88.5±0.3 ^{ab}	93.5±0.4 ^a	90.0±1.7 ^{ab}	91.1±3.7 ^a	84.7±0.7 ^b	74.8±3.6 ^c
18:3n-3	97.1±4.1 ^a	91.8±3.3 ^{ab}	83.2±0.6 ^c	74.5±5.2 ^d	95.1±7.7 ^{ab}	92.0±4.8 ^{ab}
ARA	96.8±0.6 ^a	74.6±6.9 ^{cd}	84.2±0.1 ^{bc}	69.3±1.7 ^d	95.2±2.9 ^a	92.9±5.0 ^{ab}
EPA	97.7±1.2 ^a	90.5±3.2 ^b	95.1±1.2 ^a	95.1±0.8 ^a	98.0±0.1 ^a	97.8±0.8 ^a
DHA	99.8±1.0 ^a	98.9±0.4 ^a	92.9±5.5 ^b	97.3±1.2 ^a	100.0±0.2 ^a	100.3±0.2 ^a

Resultados expresados en medias ± DE. Medias compartiendo al menos una literal son estadísticamente similares ($P < 0.05$)

7.3 Objetivo particular 3. Inclusión de harinas de subproductos en alimentos para gallina

7.3.1 Composición de los alimentos

La humedad de todos los alimentos para gallina fue de alrededor de 9.5%. El alimento control presentó un nivel de proteína de 18.6% (Tabla XXIX), que incrementó entre un 9 y un 16% al agregarle 5% de harinas experimentales, alcanzando un máximo de 21.6% en el alimento con harina de camarón secado. El extracto etéreo varió aún menos, de 9.7% en el alimento control a un máximo de 10.4% en el alimento con macarela cocida. La fibra cruda fue de 2.3% en el alimento control, y en el resto de los alimentos varió desde 1.4 a 2.5%. Las cenizas disminuyeron entre un 2 y un 14% en relación al contenido de cenizas del control. La energía bruta en el control fue de 4.2 kcal g⁻¹, y en el resto de los tratamientos varió de 4.1 a 4.3 kcal g⁻¹. La composición de ácidos grasos de los alimentos se muestra en la tabla XXX.

Los SFA variaron de 26.9 a 35.6 g kg⁻¹ (35-37% del total de ácidos grasos), de los cuales los más abundantes fueron el 16:0 (~22% del total) y el 18:0 (9-10% del total). Los MUFA oscilaron entre 39.5 y 27.3 g kg⁻¹ (36-39% del total), de los cuales el más abundante fue el 18:1n-9, que a su vez de fue el ácido graso más abundantes de todos, representando de 30-35% del total ácidos grasos en los alimentos. Los PUFA en el alimento variaron entre lo 20-26 g kg⁻¹ (25-28% del total); el PUFA más abundante fue el 18:2n-6 que acumuló del 20 a 23% del total de ácidos grasos.

Las mayores diferencias se observaron en la composición de HUFA; el alimento con calamar cocido presentó la mayor concentración, de 4.2 g kg⁻¹ (~4% del total); mientras que aquellos elaborados con harinas de macarela estuvieron muy por debajo de eso, con 0.5-0.3 g 100 g⁻¹ (44% del total). El alimento control mostró una concentración de HUFA muy baja (0.02 g kg⁻¹), el cual solo fue a ARA, mientras que los alimentos con camarón presentaron la mayor concentración de este ácido graso (0.5 g kg⁻¹). El EPA mostró concentraciones de 1.4 a 1.7 g kg⁻¹ (2%

del total) en los alimentos con hacha y calamar, mientras que aquellos con camarón y macarela presentaron de 0.3 a 0.7 g kg⁻¹ (0.1-0.6%). El contenido de DHA fue mayor en los alimentos adicionados con harinas hacha y calamar, con concentraciones de 1.0 a 2.1 g kg⁻¹ (1.2-2.2%); mientras que los alimentos que contenían camarón y macarela presentaron de 0.4 a 0.7 g 100 g⁻¹ (0.6-0.8%). No se detectó EPA ni DHA en el alimento control.

El alimento control presentó el contenido de colesterol más bajo (Tabla XXXI), con 0.15 g kg⁻¹ (12% del total de esteroides), mientras que los alimentos con harinas de calamar contenían de 1.79 a 2.05 g kg⁻¹ (61-63%), seguidos de aquellos con camarón, con 0.98-1.05 g kg⁻¹ (49-52%), y niveles de 0.43 a 0.58 g kg⁻¹ en los de hacha y macarela (25-37). El brassicasterol fue de más abundante en los alimentos con hacha, con 0.10-0.12 g kg⁻¹ (5.8-6.6%), y más escaso en el control y los de macarela (0.01-0.02 g kg⁻¹), representando del 0.9 al 1.6% del total de esteroides. El campesterol presentó concentraciones que oscilaron entre los 0.17 a 0.25 g kg⁻¹, equivalentes al 8-15%. El estigmasterol se presentó en mayores concentraciones en los alimentos con vísceras de hacha, con 0.21-0.25 g kg⁻¹ (12-13%), y con niveles <0.1 g kg⁻¹ (3-7%) en el resto de los alimentos. El β -sitosterol varió entre los 0.79-0.69 g kg⁻¹, acumulando el 65% del total de esteroides en el alimento control, y de 24 a 46% en el resto de los alimentos. La mayor concentración de esteroides totales se encontró en los alimentos adicionados con calamar, con 3.25-2.94 g kg⁻¹; mientras que la menor concentración fue la del alimento control, con 1.24 g kg⁻¹.

Tabla XXIX. Composición proximal (%) de alimentos para gallinas.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Humedad	9.7±0.2 ^{ab}	9.3±0.2 ^{ab}	9.4±0.1 ^{ab}	9.4±0.3 ^{ab}	9.2±0.2 ^b	9.6±0.1 ^{ab}	9.9±0.1 ^a	9.8±0.1 ^{ab}	9.7±0.3 ^{ab}
Proteína cruda	18.6±0.3 ^e	20.6±0.2 ^d	20.9±0.0 ^{cd}	20.8±0.2 ^{cd}	21.2±0.2 ^{bc}	21.6±0.1 ^b	20.4±0.1 ^d	22.2±0.2 ^a	20.4±0.3 ^d
Extracto etéreo	9.7±0.2 ^b	9.8±0.1 ^b	10.2±0.2 ^a	9.7±0.1 ^b	10.3±0.2 ^a	9.8±0.1 ^b	10.0±0.1 ^{ab}	10.1±0.0 ^{ab}	10.4±0.3 ^a
Fibra cruda	2.3±0.1 ^a	1.8±0.1 ^b	1.7±0.1 ^b	1.4±0.1 ^c	1.7±0.1 ^b	2.1±0.1 ^{ab}	2.5±0.1 ^a	1.9±0.1 ^{ab}	1.7±0.2 ^b
Cenizas	14.7±0.2 ^a	14.5±0.3 ^a	13.6±0.1 ^b	12.7±0.2 ^d	14.3±0.2 ^a	13.6±0.2 ^b	12.7±0.1 ^d	13.3±0.2 ^{bc}	12.8±0.1 ^c
ELN¹	54.6	53.3	53.7	56.5	52.5	52.9	55.4	52.5	54.8
Energía²	4.2±0.1 ^{ab}	4.2±0.2 ^{ab}	4.2±0.1 ^a	4.3±0.2 ^a	4.2±0.1 ^a	4.2±0.1 ^{ab}	4.1±0.1 ^b	4.1±0.1 ^b	4.1±0.1 ^b

Expresado en peso seco (Media ± DE). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$). ¹Extracto libre de nitrógeno; ² kcal g⁻¹

Tabla XXX. Lípidos totales y ácidos grasos (g kg⁻¹) en alimentos para gallinas.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
16:0	21.9±1.8	16.8±1.2	18.4±1.7	20.7±2.0	18.3±1.6	17.2±2.3	18.3±4.8	19.7±4.7	18.5±4.3
18:0	9.7±1.2	6.7±0.5	7.7±0.6	8.7±1.1	7.3±0.7	7.8±1.2	8.3±2.6	9.2±2.9	8.2±2.3
16:1n-7	2.2±0.1	2.1±0.1	2.3±0.2	2.5±0.3	2.3±0.2	2.0±0.2	2.1±0.6	1.3±1.0	1.3±1.0
18:1n-9	35.2±3.0	22.5±2.3	25.8±2.8	29.5±3.2	24.5±2.9	26.2±4.4	27.7±9.2	30.2±9.0	27.8±8.2
18:2n-6	22.9±1.5	16.5±1.5	17.7±2.2	19.5±0.6	17.9±2.0	17.0±2.1	18.1±4.2	18.0±2.8	17.5±3.4
18:3n-3	1.4±0.3	1.3±0.1	1.4±0.2	1.5±0.1	1.4±0.2	1.3±0.1	1.4±0.2	1.1±0.3	1.2±0.3
20:4n-6	0.02±0.01 ^c	0.2±0.01 ^b	0.2±0.01 ^b	0.4±0.1 ^a	0.2±0.01 ^b	0.5±0.1 ^a	0.5±0.1 ^a	0.1±0.01 ^{bc}	0.1±0.01 ^{bc}
20:5n-3	ND	1.6±0.1 ^a	1.4±0.1 ^a	1.5±0.2 ^a	1.7±0.2 ^a	0.7±0.2 ^b	0.7±0.1 ^{bc}	0.4±0.02 ^{cd}	0.3±0.01 ^d
22:6n-3	ND	1.0±0.1 ^b	1.0±0.1 ^b	2.1±0.2 ^a	1.1±0.1 ^b	0.5±0.1 ^c	0.4±0.1 ^c	0.7±0.1 ^c	0.5±0.02 ^c
SFA	35.6±3.3	26.9±1.9	29.7±2.7	33.7±3.6	29.3±2.6	28.7±4.1	30.4±8.5	32.8±8.5	30.3±7.5
MUFA	39.5±3.4	27.3±2.6	30.5±4.1	35.7±4.0	29.7±3.4	31.2±5.1	32.5±10.4	33.7±10.5	30.8±10.1
PUFA	24.6±1.8	21.2±2.0	22.4±2.7	25.8±1.3	23.0±2.5	20.5±2.8	21.5±4.9	20.7±3.4	19.9±4.0
HUFA	0.02±0.01 ^e	2.9±0.3 ^b	2.8±0.3 ^b	4.2±0.5 ^a	3.2±0.3 ^b	1.8±0.5 ^c	1.6±0.3 ^{cd}	1.2±0.1 ^{cd}	0.9±0.1 ^d
TOTAL	98.4±8.6	75.9±6.7	83.2±9.6	95.8±9.0	82.6±8.6	80.9 ±12.0	85.0±23.9	87.7±22.6	81.4±21.8

Expresado en peso seco (Media ± DE). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Tabla XXXI. Esteroles (g 100 g⁻¹) en alimentos para gallinas.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de Camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Colesterol	0.01±0.001 ^d	0.04±0.001 ^{cd}	0.05±0.01 ^{cd}	0.2±0.03 ^a	0.2±0.01 ^a	0.1±0.02 ^b	0.1±0.01 ^b	0.06±0.004 ^c	0.06±0.003 ^c
Brassicasterol	0.002±0.001 ^d	0.01±0.003 ^a	0.01±0.003 ^a	0.01±0.001 ^b	0.01±0.001 ^{ab}	0.005±0.001 ^c	0.004±0.001 ^c	0.001±0.0002 ^c	0.002±0.0003 ^c
Campesterol	0.02±0.002 ^{bc}	0.02±0.001 ^{ab}	0.02±0.002 ^a	0.03±0.002 ^a	0.02±0.002 ^a	0.02±0.001 ^{bc}	0.02±0.001 ^c	0.02±0.001 ^b	0.02±0.001 ^{ab}
Estigmasterol	0.01±0.001 ^c	0.02±0.001 ^b	0.03±0.01 ^a	0.01±0.001 ^c	0.01±0.001 ^c	0.01±0.003 ^c	0.01±0.004 ^c	0.01±0.004 ^c	0.01±0.0004 ^c
β-sitosterol	0.08±0.01	0.08±0.004	0.08±0.01	0.08±0.01	0.07±0.005	0.07±0.001	0.07±0.003	0.07±0.003	0.08±0.002
TOTAL	0.1±0.1 ^c	0.2±0.01 ^b	0.2±0.04 ^b	0.3±0.04 ^a	0.3±0.02 ^a	0.2±0.01 ^b	0.2±0.01 ^b	0.2±0.003 ^{bc}	0.2±0.003 ^{bc}

Expresados en peso seco (Media ± DE). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

7.3.2 Parámetros productivos y características del huevo

La producción de huevo se vio significativamente afectada por la inclusión de harinas de subproductos en la dieta de las gallinas. La postura fluctuó entre 96.7-83.3% (Tabla XXXII), y se observó la tendencia de que la inclusión de harinas elaboradas mediante cocción disminuían el porcentaje de postura en mayor medida que las harinas elaboradas por secado, aunque esto solo fue significativo con las harina de hacha. Por otro lado, en la producción de huevo se presentó la misma tendencia, fluctuando de 0.54 a 0.63 kg al día, aunque en este caso si se observaron diferencias significativas entre tratamientos, excepto en el caso de las harinas de calamar.

De manera general, el consumo de alimento osciló entre 88.1-105.8 g al día. En el caso de los alimentos adicionados con harinas de camarón, el elaborado mediante secado tuvo un consumo significativamente mayor, mientras que para los alimentos a base de macarela, ocurrió lo contrario.

El índice de conversión vario entre 2.43 y 2.88; los alimentos elaborados con harinas secadas presentaron los mejores índices de conversión, excepto en el caso de camarón. El peso de los huevos de todos los tratamiento osciló entre los 55.1 y 58.7 g, no habiendo diferencias significativas. Lo mismo sucedió en relación al tamaño, siendo el diámetro mayor de 57.4-58.9 mm y el diámetro menor de 41.6-42.8 mm.

Tabla XXXII. Parámetros productivos y características del huevo de gallinas.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Parámetros productivos									
Postura ¹	93.8±6.1 ^{ab}	96.7±2.7 ^a	83.3±6.0 ^c	86.3±6.8 ^{bc}	85.8±8.2 ^{bc}	93.8±5.1 ^{ab}	88.8±6.6 ^{bc}	92.1±5.9 ^{ab}	85.8±6.5 ^{bc}
Producción diaria ²	0.62±0.05 ^a	0.63±0.05 ^a	0.55±0.06 ^{bc}	0.57±0.06 ^b	0.57±0.07 ^b	0.63±0.08 ^a	0.59±0.06 ^b	0.63±0.05 ^a	0.54±0.07 ^c
Consumo diario ³	92.5±5.9 ^{bc}	93.5±7.2 ^{bc}	88.1±4.9 ^c	93.5±4.9 ^{bc}	87.1±6.1 ^c	96.9±4.4 ^b	103.6±3.7 ^a	105.8±6.9 ^a	98.1±4.9 ^b
FCA ⁴	2.58±0.2 ^{abc}	2.47±0.2 ^{bc}	2.88±0.3 ^a	2.43±0.3 ^c	2.71±0.3 ^{ab}	2.48±0.2 ^{bc}	2.39±0.4 ^c	2.46±0.2 ^{bc}	2.85±0.4 ^a
Características del huevo									
Peso ⁵	56.8±4.0	56.7±4.1	55.9±3.6	57.3±3.3	55.1±4.7	57.7±3.8	58.6±4.1	56.4±5.0	58.7±3.2
Diámetro mayor ⁴	57.4±1.9	57.7±2.2	57.7±1.7	57.6±1.4	57.4±2.2	58.9±2.4	57.9±1.6	57.9±1.9	58.0±1.2
Diámetro menor ⁴	42.2±1.2	42.5±1.0	42.3±1.0	42.6±1.4	41.6±1.2	42.1±1.3	42.9±1.6	42.0±1.0	42.8±1.3

Expresado en medias ± DE. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$). ¹ porcentaje; ² kilogramos/tratamiento; ³ gramos/individuo/día; ⁴ Factor de conversión alimenticia; ⁵ gramos; ⁶ milímetros.

7.3.3 Composición del huevo

La humedad en huevo rondó entre 74-75%, mientras que la proteína varió de 47.2 a 49.6%. Solo fue posible apreciar diferencias significativas en el contenido de extracto etéreo (Tabla XXXIII), con mayores contenidos en los huevo de los tratamientos adicionados con harina de hacha secadas, calamar cocido y ambos de camarón, (35.7 a 34.4%). Por otro lado, el alimento con calamar presentó el menor contenido de extracto etéreo (31.7%). Las cenizas oscilaron entre 3.7 y 4.2%, y el contenido calórico rondó entre 6.6-6.8 kcal g⁻¹. Los lípidos totales en yema rondaron entre 40 y 44%, sin diferencias entre tratamientos.

Se reportan las concentraciones de ácidos grasos en la fracción de lípidos neutros (LN; Tabla XXXIV) y de lípidos polares (LP; Tabla XXXV). El nivel de PUFA fue de 5.1-8.8 g 100g⁻¹; el 18:2n-6 fue el PUFA más abundante, representando el 9-11% del total en LN. Si bien para SFA, MUFA y PUFA en LN se observaron menores concentraciones se presentaban en el tratamiento de macarela cocida, en el caso de HUFA no fue así; no existieron diferencias entre tratamientos, dado que los niveles fueron relativamente constantes entre 0.8 y 1.4 g 100g⁻¹. Los HUFA en representaron el 3-7% de los ácidos grasos en LN. En cuanto a HUFA particulares, el ARA osciló entre 0.4 y 0.6 g 100g⁻¹ (1-4% del total en LN), sin diferencias significativas entre tratamientos; el EPA fue más alto en los tratamientos de hacha y calamar, con 0.03-0.05 g 100g⁻¹ (0.1-0.2% del total en LN). El DHA fue más alto en el tratamiento con vísceras de calamar cocidas, con 0.81 g 100g⁻¹ (6% del total en LN) y más bajo en el control, con 0.12 g 100g⁻¹ (0.5% del total en LN). La concentración de ácidos grasos totales en LN osciló entre 20 y 23.8 g 100g⁻¹, que presentó la menor concentración.

El nivel de PUFA fue de 1.2-1.8 g 100g⁻¹ en LP, con el 18:2n-6 como el más abundante, (10-12% del total). Los HUFA en LP fueron más altos en ambos tratamientos con hacha y calamar cocido (1.3-1.6 g 100g⁻¹), e inferiores en el control (0.7 g 100g⁻¹) y representaron el 7-10% de los ácidos grasos en LP. En cuanto a HUFA particulares, el ARA en osciló entre 0.4 y 0.6 g 100g⁻¹ (3-5% en LP); con una

menor concentración en el tratamiento con calamar secado ($0.35 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$). Los tratamientos con hacha y calamar presentaron las mayores concentraciones de EPA en LP, con $0.05\text{-}0.06 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ($0.3\text{-}0.4\%$ del total de ácidos grasos). En LP las mayores concentraciones de DHA se encontraron en ambos tratamientos con hacha y calamar, con $0.69\text{-}0.89 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ($5\text{-}6\%$ del total en LP) y la menor en el control, $0.12 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (1% del total en LP). En LP las concentraciones de ácidos grasos totales fueron de $10.9\text{-}13.7 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en la mayoría de los tratamiento, excepto en el control donde fue significativamente inferior ($9.8 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$).

El colesterol fue el esteroles más abundante en yema de huevo, con concentraciones de $1.28\text{-}1.33 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (Tabla XXXVI), las cuales representaron poco más del 98% del total de esteroides. Así mismo, se encontraron cocentraciones muy baja de algunos fitosteroides ($<2\%$ del total de esteroides), por ejemplo, brassicasterol osciló de 0.008 a $0.01 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ($0.6\text{-}0.8\%$ del total de esteroides); campesterol varió de $0.004\text{-}0.007 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ($0.3\text{-}0.5\%$ del total de esteroides). El estigmasterol se presentó con $0.005\text{-}0.006 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (0.4% del total de esteroides) y el β -sitosterol con $0.001 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ o menos ($<0.1\%$ del total de esteroides).

Ambos tratamiento con macarela presentaron una concentración menor de zeaxantina ($0.44\text{-}0.47 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) y luteína ($0.46\text{-}0.51 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$), en comparación al resto de los tratamientos ($0.53\text{-}0.96$ y $0.53\text{-}0.99 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente), mientras que el control presentó una concentración de estos carotenoides similar o inferior a (0.59 y $0.54 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) los tratamientos con harinas de subproductos. Solo se encontró astaxantina en la yema del huevos de gallinas alimentadas con las dietas adicionada con harinas de subproductos (Tabla XXXVIII), en concentraciones de 0.05 a $0.12 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$, excepto en el tratamiento de camarón cocido, que fue el mas alto de todos ($0.22 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$).

Tabla XXXIII. Composición química (%) de huevo de gallina.

	Control	Visceras de hacha		Visceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
Huevo entero									
Humedad	74.3±0.2	74.6±0.1	75.1±0.1	74.8±0.2	75.0±0.2	74.9±0.1	74.5±0.3	74.8±0.2	75.2±0.1
Proteína cruda	47.8±0.1	49.6±0.1	47.2±0.1	49.6±0.2	48.3±0.2	48.4±0.2	49.1±0.1	48.8±0.2	48.9±0.1
Extracto etéreo	33.4±0.3 ^{ab}	34.3±0.1 ^a	35.7±0.1 ^a	34.4±0.3 ^a	33.7±0.3 ^a	34.7±0.1 ^a	34.4±0.1 ^a	33.1±0.2 ^{ab}	32.5±0.3 ^b
Cenizas	4.0±0.1	3.7±0.1	4.2±0.1	3.9±0.1	4.2±0.1	4.1±0.1	4.1±0.1	3.9±0.1	3.9±0.1
Fibra cruda	ND	ND	0.1±0.1	ND	0.1±0.1	ND	ND	ND	ND
ELN	13.8	16.4	12.8	12.1	15.8	12.9	12.4	14.2	14.2
Energía ¹	6.8±0.01	6.7±0.01	6.8±0.01	6.7±0.01	6.8±0.01	6.8±0.01	6.7±0.01	6.7±0.01	6.6±0.01
Yema									
Lípidos totales	40.8±1.7	42.3±2.2	41.1±1.9	43.5±1.8	41.3±1.6	43.2±1.8	43.3±1.6	40.6±2.1	41.2±1.2

Valores expresado en peso seco (media ± DE), excepto humedad. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$). ¹ kcal g⁻¹

Tabla XXXIV. Ácidos grasos (g 100 g⁻¹) en lípidos neutros (LN) en yema de huevo de gallina.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
16:0	6.16±0.5 ^a	5.19±0.7 ^{bc}	5.10±0.5 ^{ab}	5.64±0.7 ^{ab}	5.74±0.6 ^{ab}	5.88±0.2 ^a	5.57±0.4 ^{ab}	4.29±0.6	3.16±0.1 ^c
18:0	2.23±0.2	2.03±0.03	1.98±0.4	1.95±0.2	2.39±0.6	2.33±0.4	2.07±0.2	1.82±0.1	1.72±0.1
16:1n-7	1.04±0.3 ^a	0.78±0.1 ^{ab}	0.89±0.1 ^{ab}	1.03±0.1 ^a	1.07±0.1 ^a	0.91±0.2 ^{ab}	0.96±0.1 ^a	0.71±0.2 ^{ab}	0.52±0.1 ^b
18:1n-9	11.67±2.1 ^a	9.07±1.7 ^{ab}	10.24±0.9 ^{ab}	11.19±1.7 ^a	10.99±1.3 ^a	11.33±0.5 ^a	9.96±1.4 ^{ab}	8.57±1.7 ^{ab}	6.56±0.5 ^b
18:2n-6	2.30±0.3 ^a	2.30±0.3 ^a	2.32±0.2 ^a	2.29±0.04 ^a	2.32±0.4 ^a	2.33±0.2 ^a	2.10±0.2 ^{ab}	1.79±0.3 ^{ab}	1.43±0.1 ^b
18:3n-3	0.06±0.02 ^{ab}	0.06±0.01 ^{ab}	0.07±0.01 ^a	0.07±0.01 ^a	0.07±0.01 ^a	0.06±0.01 ^{ab}	0.04±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^{ab}	0.03±0.01 ^b
20:4n-6	0.49±0.1	0.43±0.1	0.48±0.2	0.40±0.01	0.45±0.2	0.36±0.1	0.51±0.1	0.46±0.04	0.59±0.1
20:5n-3	0.01±0.01 ^c	0.03±0.01 ^b	0.03±0.01 ^b	0.03±0.02 ^{ab}	0.05±0.03 ^a	0.01±0.01 ^c	0.01±0.01 ^c	0.01±0.01 ^c	0.01±0.01 ^c
22:6n-3	0.12±0.01 ^c	0.53±0.2 ^{ab}	0.70±0.2 ^{ab}	0.55±0.03 ^{ab}	0.81±0.3 ^a	0.69±0.1 ^{ab}	0.31±0.1 ^b	0.41±0.1 ^b	0.41±0.03 ^b
SFA	8.79±0.8 ^a	7.59±0.8 ^{ab}	7.47±1.0 ^{ab}	7.97±0.9 ^a	8.58±1.3 ^a	8.62±0.8 ^a	7.98±0.7 ^{ab}	6.41±0.8 ^{bc}	5.14±0.3 ^c
MUFA	13.60±2.7 ^a	10.62±1.9 ^{ab}	12.10±1.1 ^{ab}	13.23±1.8 ^a	13.06±1.7 ^a	13.09±1.1 ^a	11.74±1.7 ^{ab}	10.07±2.0 ^{ab}	7.70±0.6 ^b
PUFA	2.44±0.4 ^a	2.43±0.5 ^a	2.45±0.5 ^a	2.41±0.1 ^a	2.44±0.3 ^a	2.44±0.3 ^a	2.20±0.3 ^{ab}	1.90±0.3 ^{ab}	1.53±0.2 ^b
HUFA	0.75±0.1	1.04±0.3	1.27±0.4	1.01±0.1	1.36±0.6	1.12±0.2	0.91±0.2	0.96±0.1	1.10±0.1
TOTAL	23.74±4.1 ^a	20.82±3.3 ^a	23.43±2.7 ^a	23.78±2.8 ^a	23.60±4.0 ^a	23.40±2.2 ^a	22.95±2.7 ^a	21.47±3.2 ^{ab}	19.96±1.2 ^b
n-6:n-3	10.1±0.4 ^c	4.1±0.9 ^a	3.3±0.6 ^a	3.7±0.2 ^a	2.9±0.5 ^a	3.2±0.1 ^a	6.2±0.2 ^b	4.3±0.7 ^a	4.1±0.2 ^a

Valores expresado en peso seco (media ± DE), excepto humedad. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Tabla XXXV. Ácidos grasos (g 100 g⁻¹) en lípidos polares (LP) en yema de huevo de gallina.

	Control	Visceras de hacha		Visceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida	Secada	Cocida
16:0	2.85±0.3 ^c	4.25±1.2 ^{abc}	5.02±0.3 ^{ab}	5.16±0.2 ^a	3.74±0.7 ^{abc}	3.14±0.2 ^c	3.33±0.2 ^c	3.36±0.3 ^c	3.63±0.4 ^{bc}
18:0	1.42±0.2 ^c	2.01±0.3 ^{abc}	2.26±0.1 ^{ab}	2.39±0.2 ^a	1.61±0.4 ^c	1.56±0.2 ^c	1.75±0.1 ^{bc}	1.50±0.1 ^c	1.76±0.2 ^{bc}
16:1n-7	0.13±0.02 ^b	0.15±0.03 ^{bc}	0.20±0.02 ^{ab}	0.21±0.03 ^a	0.15±0.01 ^{bc}	0.13±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b	0.14±0.03 ^{bc}
18:1n-9	3.16±0.3 ^c	4.22±1.1 ^{abc}	4.76±0.2 ^{ab}	5.03±0.3 ^a	3.36±0.6 ^c	3.08±0.2 ^c	3.49±0.03 ^{bc}	3.39±0.1 ^{bc}	3.54±0.5 ^{bc}
18:2n-6	1.18±0.1 ^a	1.41±0.3 ^{ab}	1.70±0.2 ^a	1.74±0.03 ^a	1.21±0.2 ^a	1.10±0.1 ^a	1.23±0.1 ^a	1.18±0.1 ^a	1.37±0.1 ^a
18:3n-3	0.01±0.002 ^b	0.01±0.003 ^b	0.02±0.002 ^a	0.02±0.001 ^a	0.01±0.001 ^b	0.01±0.001 ^b	0.01±0.001 ^b	0.01±0.001 ^{ab}	0.01±0.002 ^{ab}
20:4n-6	0.46±0.1 ^{ab}	0.52±0.1 ^{ab}	0.54±0.03 ^a	0.60±0.1 ^a	0.35±0.1 ^b	0.55±0.1 ^a	0.57±0.1 ^a	0.43±0.03 ^{ab}	0.56±0.03 ^a
20:5n-3	0.003±0.001 ^d	0.05±0.01 ^a	0.06±0.00 ^a	0.05±0.002 ^a	0.05±0.004 ^a	0.02±0.005 ^b	0.02±0.005 ^b	0.01±0.002 ^c	0.01±0.003 ^c
22:6n-3	0.12±0.02 ^c	0.70±0.2 ^a	0.89±0.1 ^a	0.85±0.02 ^a	0.69±0.1 ^a	0.30±0.03 ^b	0.34±0.01 ^b	0.37±0.1 ^b	0.37±0.04 ^b
SFA	4.36±0.5 ^c	6.36±1.6 ^{abc}	7.45±0.4 ^{ab}	7.71±0.4 ^a	5.46±1.1 ^{bc}	4.80±0.3 ^c	5.20±0.2 ^c	4.97±0.4 ^c	5.52±0.6 ^{bc}
MUFA	3.47±0.4 ^c	4.59±1.2 ^{abc}	5.32±0.3 ^{ab}	5.57±0.4 ^a	3.72±0.7 ^c	3.42±0.2 ^c	3.85±0.1 ^{bc}	3.76±0.2 ^c	3.95±0.6 ^{bc}
PUFA	1.25±0.02 ^b	1.48±0.04 ^{ab}	1.79±0.03 ^a	1.82±0.01 ^a	1.26±0.04 ^b	1.16±0.02 ^b	1.28±0.03 ^b	1.24±0.02 ^c	1.44±0.03 ^{bc}
HUFA	0.66±0.2 ^d	1.32±0.2 ^{ab}	1.55±0.1 ^a	1.55±0.1 ^a	1.12±0.2 ^{bc}	0.96±0.2 ^{cd}	1.02±0.1 ^{bc}	0.88±0.1 ^{cd}	1.02±0.1 ^{bc}
TOTAL	9.76±1.1 ^c	12.78±3.4 ^a	13.15±1.0 ^a	13.70±0.9 ^a	11.58±2.2 ^b	10.36±0.7 ^b	11.37±0.6 ^b	10.87±0.7 ^b	11.95±1.4 ^{ab}
n-6:n-3	11.1±0.5 ^c	2.5±0.1 ^a	2.3±0.1 ^a	2.5±0.1 ^a	2.0±0.3 ^a	4.7±0.1 ^b	4.6±0.5 ^b	4.0±0.5 ^b	4.7±0.2 ^b

Valores expresado en peso seco (media ± DE), excepto humedad. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Tabla XXXVI. Esteroles (g 100g⁻¹) en yema de huevo de gallina.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>
Colesterol	1.28±0.3	1.28±0.1	1.30±0.1	1.30±0.2	1.29±0.2	1.31±0.02	1.31±0.09	1.33±0.05	1.30±0.06
Brassicasterol	0.009±0.001	0.01±0.003	0.009±0.001	0.01±0.001	0.009±0.001	0.008±0.001	0.009±0.001	0.01±0.001	0.009±0.002
Campesterol	0.007±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.004±0.002	0.005±0.001	0.004±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.005±0.002
Estigmasterol	0.005±0.001	0.006±0.001	0.005±0.001	0.005±0.002	0.005±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.005±0.001	0.005±0.002
β-sitosterol	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001	0.001±0.001
TOTAL	1.28±0.08	1.30±0.1	1.32±0.2	1.32±0.2	1.31±0.2	1.32±0.02	1.33±0.09	1.35±0.05	1.32±0.06

Expresado en peso seco (Media ± DE)

Tabla XXXVII. Carotenoides (mg 100 g⁻¹) en yema de huevo de gallina.

	Control	Vísceras de hacha		Vísceras de calamar		Cabezas de camarón		Macarela entera	
		<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>	<i>Secada</i>	<i>Cocida</i>
Astaxantina	ND	0.12±0.04 ^b	0.12±0.02 ^b	0.05±0.01 ^d	0.05±0.01 ^d	0.09±0.01 ^c	0.22±0.03 ^a	ND	ND
Zeaxantina	0.59±0.04 ^{ab}	0.96±0.3 ^a	0.85±0.3 ^{ab}	0.54±0.02 ^{ab}	0.64±0.1 ^{ab}	0.53±0.01 ^{ab}	0.62±0.2 ^{ab}	0.44±0.02 ^b	0.47±0.02 ^{ab}
Luteína	0.54±0.04 ^b	0.99±0.2 ^a	0.88±0.3 ^{ab}	0.61±0.03 ^b	0.78±0.1 ^{ab}	0.53±0.01 ^b	0.72±0.1 ^{ab}	0.46±0.02 ^b	0.51±0.1 ^b

Expresado en peso húmedo (Media ± DE). Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$). ND = No detectado.

7.3.4 Evaluación sensorial

Al finalizar el experimento se llevó a cabo un panel de evaluación sensorial de los huevos producidos. Este panel contó con 60 personas no entrenadas, quienes consumían huevo al menos una vez por semana. Primer se les pidió apreciar la coloración de la yema con abanico *DSM*, que funciona mediante una escala del 1 al 15, en donde 1 es la más baja intensidad de color y 15 la más alta. Como se muestran en la Figura 20, los mayores valores se presentaron en ambos tratamientos con harinas de cabezas de camarón azul (13) y vísceras de hacha (11-12); por otro lado los menores valores para esta característica fueron los del tratamiento control y ambos de macarela entera (4).

Para el panel sensorial, los resultados mostraron que la adición de las harinas de subproductos al 5% del alimento no afectaba de manera significativa características sensoriales como color (Figura 21), olor (Figura 22), sabor (Figura 23) y consistencia (Figura 24) de huevos hervidos en agua durante 12 min.

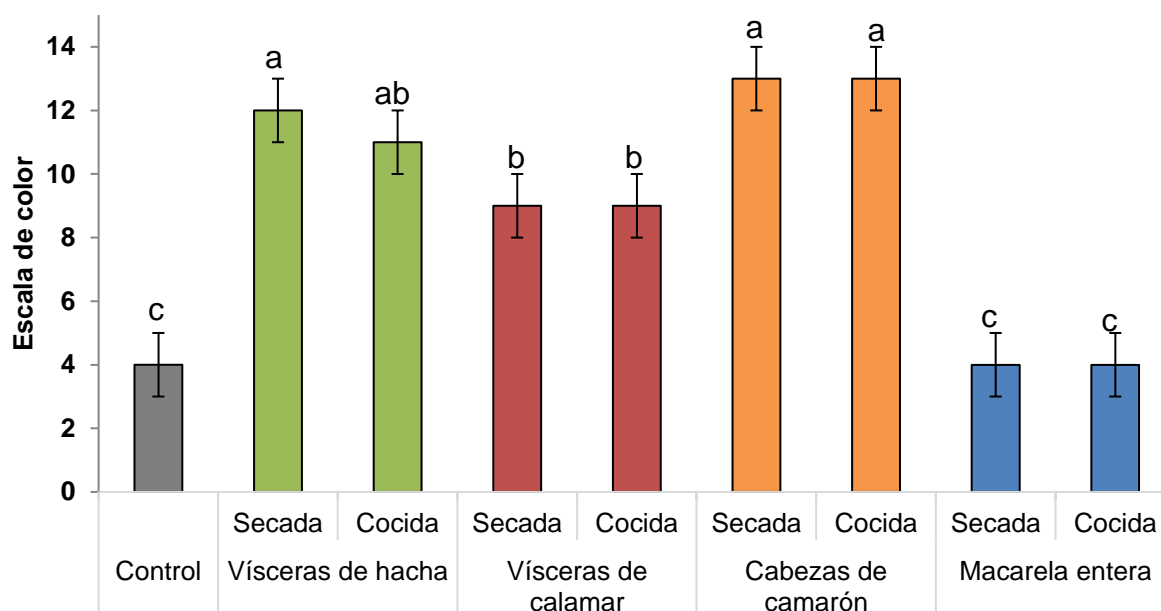


Figura 20. Color de yema en huevo crudo. Medias compartiendo al menos un literal, no son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

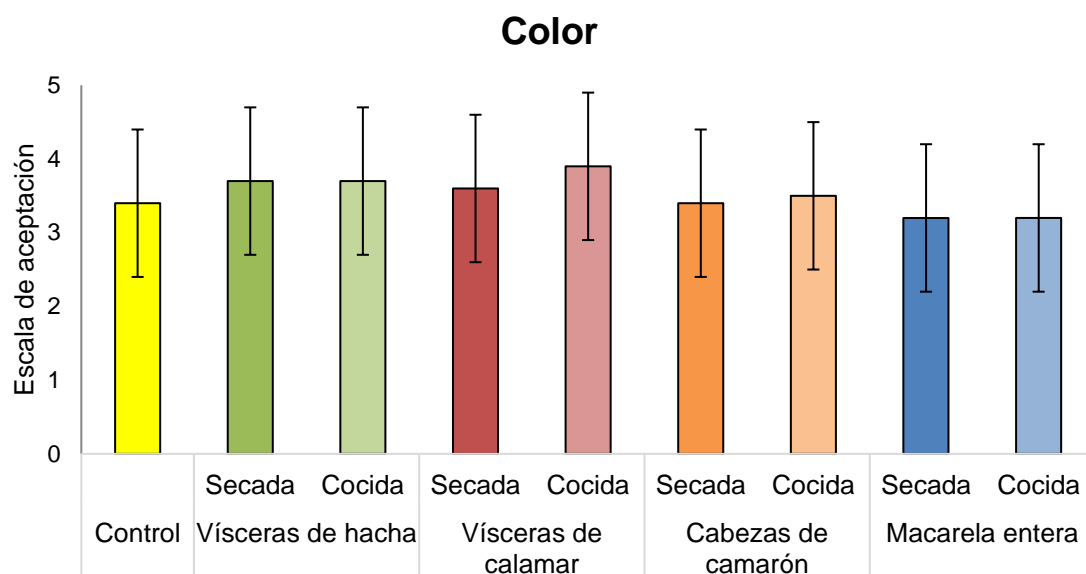


Figura 21. Color de huevo cocido

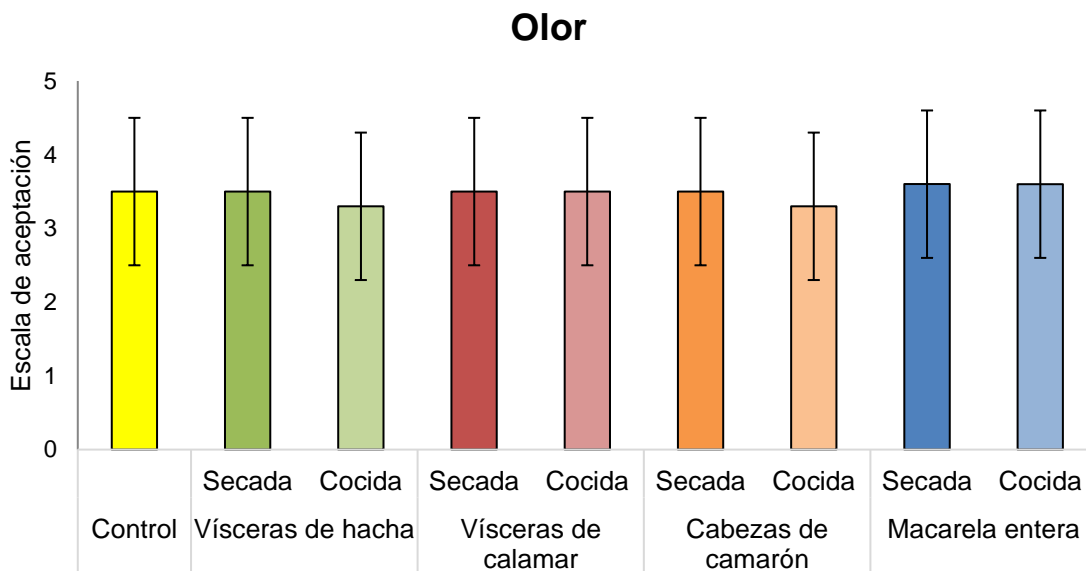


Figura 22. Olor de huevo cocido.

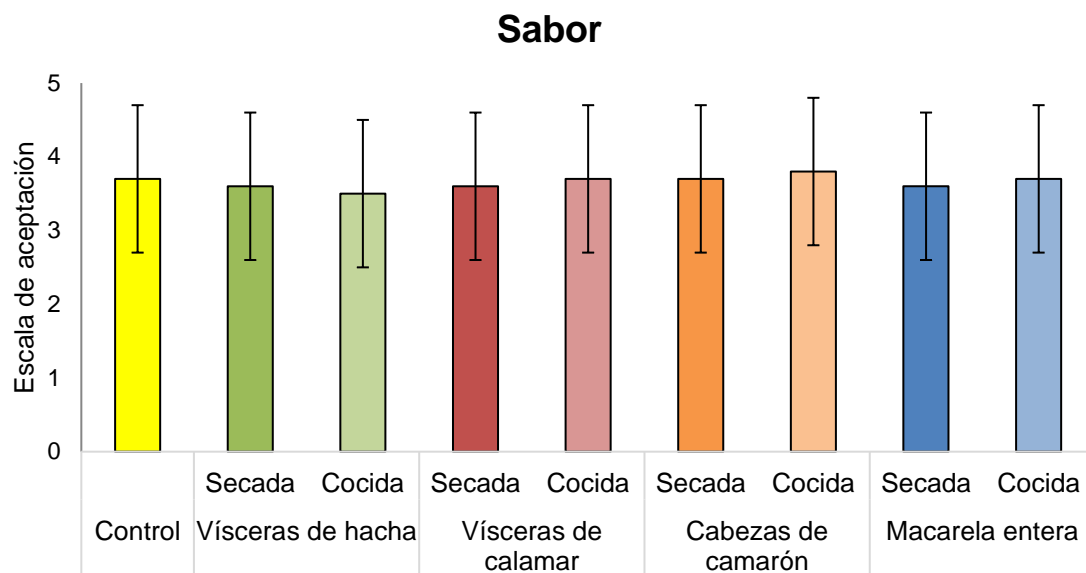


Figura 23. Sabor de huevo cocido.

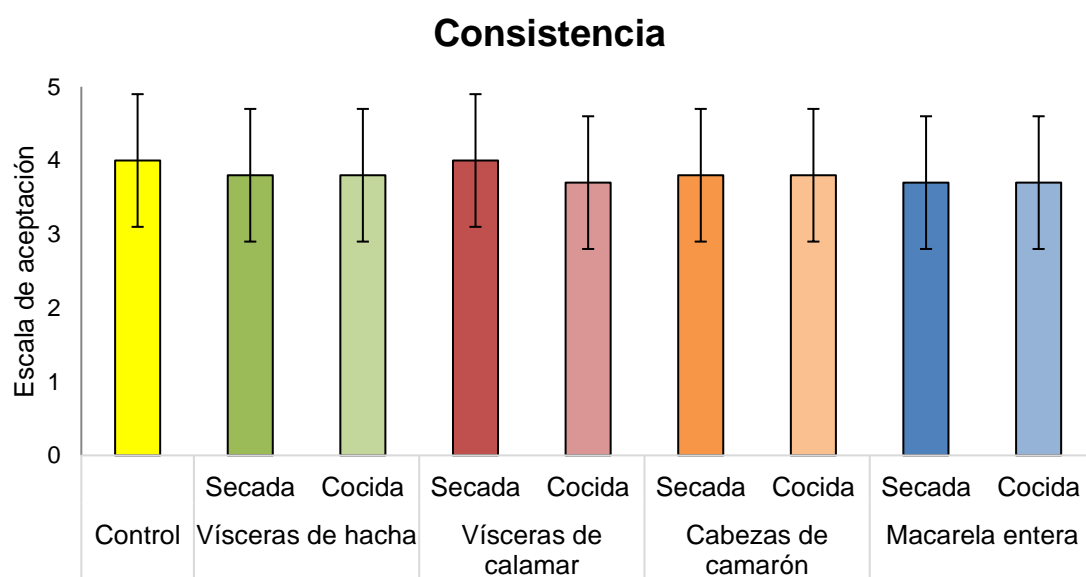


Figura 24. Consistencia de huevo cocido.

8. DISCUSIÓN

8.1 Composición de subproductos frescos y métodos de análisis.

En el presente trabajo, decidimos usar la macarela como testigo/control de análisis y proceso de producción de harinas, ya que la macarela y otros peces pelágicos se usan comúnmente para fabricar harinas de pescado, y por ende, su composición y variaciones ya se conocen mejor. En otros trabajos se ha reportado que la macarela entera contiene 61-71% de proteína (Haaland *et al.*, 1990; Feng *et al.*, 2012), lo cual concuerda con lo reportado en el presente trabajo (67%). La macarela entera contiene vísceras, consecuencia de esto, un mayor contenido de proteína en comparación a los subproductos que tenían mayor proporción de vísceras, como es el caso del hacha y el calamar con 21-25% menos proteína que el pescado. Las cabezas de camarón mostraron más proteína (63%) que las vísceras, aun cuando la proporción de músculo es baja, y en concordancia con otros trabajos que reportan 50-60% (Nwana, 2003; Andrade *et al.*, 2007; Sanchez-Camargo *et al.*, 2011). Estos niveles altos de proteína en camarón pueden deberse a la técnica que se utilizó para cuantificar proteína, que fue el método de Dumas, el cual funciona mediante la cuantificación del nitrógeno liberado después de una combustión a 850°C (Miller *et al.*, 2007). Es probable que el contenido de proteína en cabezas de camarón, y por consiguiente en sus harinas, este sobreestimado por el contenido de quitina, un polisacárido con grupos funcionales acetamida ($\text{CH}_3\text{-CO-NH}_2$) (Mizani *et al.*, 2005) que puede llegar a ser de 90-110 g kg⁻¹ en peso seco de cabezas de camarón. Se ha reportado que del total de proteína cruda en cabezas de camarón 69% corresponde a proteína real y 31% a quitina (Diaz-Roja *et al.*, 2006). Si bien la quitina es cuantificada como parte de la proteína cruda por ser un compuesto nitrogenado (Cocoletzi *et al.*, 2009), esta es muy poco digestible para el camarón (Civera *et al.*, 1996) por lo que se sobreestima la cantidad de proteína biodisponible en presencia de este compuesto. Una forma de determinar la proteína verdadera cuando hay quitina, es mediante la cuantificación de la quitina y corregir la proteína cruda tomando en cuenta el aporte de nitrógeno de quitina, lo cual no se efectuó en el

presente trabajo. Otra manera de valorar la proteína en crustáceos es mediante el análisis de ceniza, que como se observa en cabeza de camarón, es el doble (21%) en relación a lo que se encontró en macarela (10%), cuyo contenido de ceniza está de hecho asociado a la presencia de huesos (Naylor *et al.*, 2009), por lo que harinas elaboradas con subproductos de pescado contienen mayor proporción de cenizas, y son consideradas de menor calidad, que aquellas elaboradas con pescado entero. Por otro lado, una particularidad en el hacha fue la presencia de una gran cantidad de pequeños crustáceos viviendo adentro de la concha, y por ende estuvieron presentes en las harinas, lo cual posiblemente incrementó la proteína en las harinas de esta materia prima ya que dichos crustáceos contienen una considerable cantidad de quitina y que al igual que para las cabezas de camarón, lleva a una sobreestimación de la proteína. Así mismo, el alto contenido de cenizas en estas harinas pudo deberse a dos razones: 1) a la presencia de los crustáceos, ya que aprox. el 10% de su peso corresponde a cenizas (Heu *et al.*, 2003), y 2) a que las hachas son filtradores, y comúnmente acumulan arena entre sus vísceras (Cranford *et al.*, 1998). La proteína en vísceras de calamar fue de 53% y estuvo por debajo a lo reportado en trabajos previos, 69-75% (Carver *et al.*, 1989; Martínez-Vega *et al.*, 2000), no obstante, el contenido de extracto etéreo de las vísceras del presente trabajo, al menos duplicó lo encontrado en los trabajos anteriormente citados.

En la presente tesis se utilizaron dos métodos para determinar lípidos; 1) el extracto etéreo (EE), que es parte del análisis químico proximal en donde se extraen los lípidos con éter de petróleo en caliente y, 2) la determinación de lípidos totales (LT) por Folch, que utiliza cloroformo-metanol en frío para la extracción. Ambas son cuantificaciones gravimétricas del lípido extraído, pero la diferencia entre estos métodos radica en que la mezcla de solventes cloroformo:metanol utilizados para la determinación de LT tienen mayor capacidad de extraer lípidos del tipo polar (Xiao, 2010) y en particular a partir de una matriz orgánica que consiste en membranas celulares, mientras que el EE cuantifica mejor los lípidos solubles no unidos a una matriz orgánica (Pérez-Palacios *et al.*, 2008), como pueden ser acilgliceridos en aceites o lipoproteínas. Por ejemplo, Folch *et al.* (1957) reportaron una extracción

de 96% cuando los lípidos se extraían de una matriz orgánica de músculo de pescado, que contiene en promedio 10% de lípidos, en su mayoría fosfolípidos de membrana. En contraste, con éter de petróleo las extracciones en materias primas donde el contenido de lípidos es menor a 20% tienden a ser de 50-80% en relación a valores de referencia, mientras que cuando el contenido de lípidos es superior a 20% (aceites con la mayor parte en forma de acilglicéridos libres) la extracción de lípidos tiene una eficiencia de más del 80% (Pérez-Palacios *et al.*, 2008). Además del tipo de matriz usada, la extracción de lípidos con EE puede provocar oxidación lipídica y pérdida de algunas moléculas polares durante la extracción, que se realiza a 80-100°C durante 4-6 horas (Toussaint *et al.*, 2002).

Por lo anterior es necesaria la comparación de datos de trabajos en los cuales se midieron los lípidos con uno u otro método para medir el contenido de lípidos en muestras frescas de un origen similar a las utilizadas en la presente tesis, es decir organismos marinos, ya sean tejidos, mezclas de tejidos, u organismo completos (Ver Tabla XXXVIII en Anexos). Solo un trabajo reporta el resultado usando las dos técnicas en cabezas de camarón, y se observa que los resultados son prácticamente iguales (Sánchez-Camargo *et al.*, 2011). En los demás, de forma general se obtienen valores mayores de LT por Folch que por EE. Lo anterior concuerda con nuestros resultados para los subproductos, pero no para la macarela, donde se obtuvieron datos para lípidos mayores por EE que por LT-Folch. Es necesario especificar que durante la extracción de lípidos y en particular cuando la extracción se realiza en tejido muscular, algunos carbohidratos y proteínas unidos a los fosfolípidos son arrastrados en el solvente (De Koning *et al.*, 1985; Lázaro *et al.*, 1995). En el presente trabajo, para eliminar los compuestos no lipídicos usando cloroformo:metanol, la mezcla homogenizada y sonicada (para romper membranas) de solventes-matriz orgánica se filtro a través de una columna de silica humedecida al 6% y fibra de vidrio, con lo cual se obtuvieron reducciones de 20 a 50%, debida a proteína y carbohidratos. Por ende, los valores de LT en la mayoría de los subproductos fueron menores a los de EE, con excepción de la macarela que tiene mayor contenido de músculo, y por ende, proteína unida a fosfolípidos.

Además de las variaciones metodológicas, hay que tener en cuenta las variaciones en la composición química de las materias primas debidas a variaciones en el lugar o temporada de captura, a características propias del organismo, como la edad, sexo o el estado fisiológico (Fenucci, 2007). Por ejemplo, la concentración de acilglicéridos y colesterol en gónadas de *Argopecten ventricosus* disminuye hasta 50% después del desove (Racotta *et al.*, 1998), mientras que los lípidos totales en gónada y glándula digestiva de *N. subnodosus* puede variar a lo largo del año, oscilando entre 13-24% y 25-45% en cada tejido, respectivamente (Racotta *et al.*, 2003). Estos incrementos en el contenido de lípidos son probablemente debidos a la gametogénesis, como fue reportado por Palacios *et al.* (2000) en gónada madura de *P. vannamei*, con aumentos simultáneos en acilglicéridos, colesterol y proteínas. Así mismo, Zheng *et al.* (2012) reportaron una mayor acumulación de lípidos y carotenoides en gónada femenina de *Chlamys nobilis* durante la maduración, en comparación a músculo aductor y manto. De Moreno *et al.* (1998) observaron que calamares capturados en maduración (Junio) presentaron ovarios más grandes y con mayor cantidad de lípidos en ovarios y glándula digestiva, que aquellos inmaduros capturados en Febrero; también reportaron que los machos solo acumularon más lípidos en glándula digestiva, permaneciendo los testículos con contenido similar de lípidos y de tamaño en todas las épocas.

El contenido de ácidos grasos también puede variar en relación a los tejidos y a la época o estado de madurez de los organismos. Caers *et al.* (1999) reportaron mayor cantidad de DHA en músculo aductor y manto en comparación con branquias y gónadas en *A. purpuratus*. Las gónadas maduras acumulan más del doble de EPA y DHA que cuando estas son inmaduras, como se demostró para de *N. subnodosus* (Palacios *et al.*, 2005) y calamares *Illex coindetii* y *Todaropsis eblanae* (Rosa *et al.*, 2005). Los ácidos grasos generalmente son movilizados desde glándula digestiva a la gónada durante la maduración y su contenido esta afectado por la disponibilidad de alimento que puede variar a lo largo del año, como se ha demostado para *P. maximus* (Pazos *et al.*, 2003) y *N. subnodosus* (Racotta *et al.*, 2008), y calamares (Rosa *et al.*, 2005). Los altos niveles de DHA en gónadas de moluscos, por lo

general no acumulan este ácido graso, ya que se usa para producir larvas móviles, que si requieren DHA (Hall *et al.*, 2002). Por otro lado, el contenido de ácidos grasos en *P. semisulcatus* silvestres varía a lo largo del año, por ejemplo, DHA sube de 5.1 a 12.2%, el EPA de 7.7 a 12.5% y el ARA de 4.3 a 7.5 (Yanar y Çelik, 2005); los autores atribuyen estas variaciones a la temperatura del agua, encontrando un mayor proporción de HUFA en la temporada fría. Variaciones de ácidos grasos en relación a la temperatura también se han reportado para *P. maximus* y *P. magellanicus*, principalmente para modificar la fluidez de membrana en temporadas frías (Hall *et al.*, 2002). Similares variaciones en relación al estadio de madurez se pueden encontrar en calamar y camarón, pero independientemente del estadio fisiológico, se sabe que el calamar acumula altas concentraciones de DHA, que llegan al 25% del total de ácidos grasos (Lian *et al.*, 2005), incluso mayores que los valores obtenidos para macarela. En contraste, los camarones acumulan poco DHA. En el presente trabajo, incluso si los valores de HUFA encontrados en cabezas de camarón café de pesca parecieran bajos en comparación a los otros subproductos, estos fueron casi el triple de los HUFA reportados en cabezas de camarón cultivado *L. vannamei* (12% del total de ácidos grasos). Por otro lado, los PUFA en camarón de cultivo fueron 20 veces más altos que los de pesca (Takeungwongtrakul y Benjakul, 2012); lo anterior se debe a que normalmente los camarones cultivados consumen alimentos con altas proporciones de harinas de plantas terrestres, principalmente soya (Samocho *et al.*, 2004), que contiene 18:1n-9, ácido linoleico (18:2n-6) y otros PUFA en abundancia (Galicia *et al.*, 2010). En contraste con los anterior, debido a que las cabezas de camarón del presente trabajo provenían de medio silvestre, la concentración de PUFA fue muy baja (0.04 g 100g⁻¹) en comparación a la de HUFA (2.33 g 100g⁻¹).

Se encontraron altas concentraciones de colesterol en vísceras de calamar y cabezas de camarón, con concentraciones un poco más bajas para macarela. El colesterol es el principal esteroles en estos organismos, que se acumula en su forma libre en las membranas celulares externas. En contraste, la composición de esteroides en hacha es similar a la de esteroides reportada previamente en almeja

mano de león (Palacios *et al.*, 2007). Los bivalvos tienen una limitada capacidad para sintetizar colesterol a partir de fitoesteroles (Napolitano *et al.*, 1993), por lo que la composición de fitoesteroles es reflejo de las microalgas ingeridas. Por ejemplo, en la almeja *Pecten maximus*, una dieta a base de *Chaetoceros calcitrans* incrementa el colesterol y el fucosterol en tejidos, y por otra parte, *Isochrysis galbana* aumenta brassicasterol (Soundant *et al.*, 1998). Se ha reportado que las almejas acumulan esteroides esterificados (ESE) en glándula digestiva y gónada y en algunos periodos del año, los ESE en gónada presentan una concentración mucho mayor a los esteroides libres en glándula digestiva (Palacios *et al.*, 2007), mientras que los bajos niveles de ESE en macarela pueden ser resultado de una mayor cantidad de músculo en relación a la víscera, ya que el músculo no acumula ESE. Otros esteroides, como el dihidrocolesterol, son productos finales del metabolismo de colesterol en los intestinos o sustrato para la síntesis de colesterol (Kerr y Baker, 1991).

Por lo general, los peces más grandes tienden a tener niveles más altos de mercurio, pero los niveles en la macarela de este trabajo fueron bastante altos en comparación a otras especies de macarela (Bae *et al.*, 2011). Las hachas utilizados en el presente estudio eran muy grandes (30-40 cm) y probablemente de varios años de edad (7-10 años), por lo que bioacumularon altos niveles de metales pesados (Louma *et al.*, 1990). En contraste, el ciclo de vida de los camarones es corto, lo cual limita la bioacumulación de metales pesados. Además de la biomagnificación por edad, los organismos pueden biomagnificar los metales pesados a partir del alimento. Las vísceras de calamar han sido reportadas como abundantes en mercurio y cadmio (Wang *et al.*, 2012; Raimundo *et al.*, 2014), dado que la dieta principal de los calamares adultos son peces pelágicos (Nigmatullin *et al.*, 2001) los cuales normalmente contiene estos metales pesados (Ikem y Egiebor, 2005; Mol, 2011). Los moluscos filtradores biomagnifican metales pesados a partir del material particulado suspendido en el agua, y comúnmente utilizados como indicadores de contaminación ambiental en aguas costeras (Cantú-Medellín *et al.*, 2009). Por último, el mercurio es acumulado en tejidos metabólicamente activos,

como riñón e hígado, por lo que esperamos que las harinas elaboradas con subproductos de pescado pueden contener grandes cantidades de mercurio en comparación con harinas elaboradas con pescado completo. Sin embargo, el camarón café *Penaeus californiensis* silvestre fue el menos contaminado, aun si la mayor parte de los metales pesados se encuentren en el hepatopáncreas (Paez-Osuna y Tron-Mayen, 1995).

8.2 Composición de harinas y procesos de producción.

La composición nutrimental y calidad de las harinas puede variar en función de lo mencionado en la sección anterior, pero también hay un efecto determinante de las condiciones de procesamiento, y particularmente las temperaturas de cocción y secado (Terrazas *et al.*, 2005), en la Tabla XXXIX (Ver en Anexos) se observan algunos ejemplos de ingredientes elaboradas con materias primas similares a las del presente trabajo. Por ejemplo, las pérdidas de proteína debidas a la cocción eran de esperarse, ya que las proteínas son solubilizadas en el agua caliente y posteriormente lixiviadas en el caldo de cocción (Guerra *et al.*, 2011). La lixiviación de proteína es todavía más evidente cuando las materias primas para la cocción son ricas en aminoácidos polares, como asparagina y glutamina, que han sido reportados como los más abundantes en peces marinos (Vidotti *et al.*, 2003).

La disminución en el contenido de proteína en las harinas de macarela fue tal, que terminó siendo similar a la proteína en harinas de hacha, aun cuando la hacha cruda tuvo el menor contenido de proteína y la macarela cruda el más alto. En cabezas de camarón la cocción puede lixiviar la quitina, y esta reacción es acelerada por dos factores: la composición del caldo de cocción y la temperatura de ebullición (Percot *et al.*, 2003). La cocción de materias primas como el pescado en principio desnaturaliza la proteína nativa y mejora su digestibilidad, pero las proteínas desnaturalizadas son más reactivas, presentando procesos de oxidación en donde se liberan grupos carbonilo y hay pérdida de aminoácidos esenciales (Papadopoulos, 1989). Al subir la temperatura a 100°C la digestibilidad puede

reducirse debido a la formación de enlaces di-sulfuro, lo que impide la acción de las enzimas digestivas (Opstvedt *et al.*, 1984).

Las harinas industriales de pescado comúnmente son sobrecalentadas e incluso parcialmente quemadas, lo que además de lo anterior, produce pérdida de bases nitrogenada volátiles (Opstvedt *et al.*, 2003). Además, en el proceso de elaboración de harinas y específicamente durante el secado, es posible que ocurra racemización de aminoácidos, lo cual depende de las condiciones del proceso, como lo demuestran los resultados de Bellagamba *et al.* (2015), quienes a condiciones moderadas de secado (89°C/140 min) observaron una producción de D-aspartato 80% menor en comparación cuando se usó una temperatura más alta (110°C/140 min). También, Luzzana *et al.* (1996) analizando harinas de pescado comerciales, notaron un grado de racemización 6 veces mayor en aquellas que fueron expuestas a calor por 127°C por 3.5 horas, en comparación a la misma temperatura por 1 hora. Cuando las harinas de pescado se sobrecalientan, aumenta el contenido de minerales o cenizas como resultado de la incineración de compuestos orgánicos (Chapman y Miles, 2006), que aunado al alto contenido de ceniza que se debe de forma natural a la presencia de huesos en la materia prima (Naylor *et al.*, 2009), puede disminuir la calidad y precio de la harina; al respecto, Chapman y Miles (2006) establecen que con hasta 25% de cenizas en una harina de pescado todavía se le puede considerar una harina de “buena calidad”. La harina de pescado de origen comercial utilizada en el presente trabajo presentó un contenido de cenizas del 20%, lo que pudiera indicar que fue fabricada con subproductos de pescado, o que la materia prima fue incinerada moderadamente.

En el presente trabajo se observó un incremento en la proteína contenida en la harina secada producida de hacha (52.7%), en comparación con el subproducto fresco (50.1%), en contra de lo esperado. Una explicación a esto es el cambio en el contenido de humedad de las muestras. Aun si los análisis de proteína se realizaron en harinas relativamente secas y en materia prima liofilizada, la aplicación de un proceso térmico previo (en este caso el secado sin cocción) a la determinación de

humedad aumenta la extracción del agua, ya que desnaturaliza algunas matrices orgánicas. Por otro lado, la liofilización conserva en mayor medida la estabilidad de las matrices orgánicas (Ratti, 2001), por lo que la humedad remanente en un producto liofilizado pudiera ser subestimada y esta diferencia de humedad pueden también afectar la concentraciones de otros compuestos bioquímicos como los ácidos grasos, carotenoides, esteroides, entre otros.

Al exponer las materias primas a condiciones de ebullición se desnaturalizan las matrices orgánicas (Chantachum *et al.*, 2000) lo cual libera lípidos dentro del caldo de cocción, donde pueden ser más fácilmente hidrolizados a ácidos grasos libres y oxidados (Miyashita *et al.*, 1994). Por otro lado, cuando las materias primas son molidas y secadas a baja temperatura (60°C) los lípidos pueden permanecer unidos a la fracción proteica (Opstvedt y Mundheim, 1988) o permanecer unidos a la cadena de glicerol sin ser hidrolizados, y por lo tanto, son más estables. En concordancia, el contenido de LT en las harinas secadas fue similar al de la materia prima cruda. Los mayores niveles de EE en harina secada podría deberse a la liberación de cierta cantidad de lípidos de la matriz orgánica por la aplicación de calor, dejando expuestos estos lípidos al arrastre por éter de petróleo y permitiendo así su cuantificación. Otras diferencias asociadas a incrementos en distintos tipos de lípidos en harinas secadas y cocidas pueden ser atribuibles a las diferencias en la extracción, análisis y cuantificación debido principalmente, al contenido de humedad, como se mencionó antes.

Los niveles de monoacilglicéridos (MG), diacilglicéridos (DAG) y ácidos grasos libres (AGL) indican una hidrólisis de triacilglicéridos (TAG) y fosfolípidos (FL) como resultado ya sea del proceso de fabricación, pero también por manipulación después de la captura y/o durante la conservación-congelación, como es el caso de calamar, con altos niveles de AGL en fresco y que se discutirá más adelante. Los niveles de TAG y FL se redujeron más en macarela cocida que en macarela secada, mientras los valores de MG incrementaron en ambas, y de AGL en macarela secada. Esto indica una hidrólisis de TAG y FL a favor de una

acumulación de MG y AGL en harinas secadas, mientras que en harinas cocidas los AGL probablemente se pierden por oxidación y lixiviación en el caldo de cocción caliente (Pérez-Santín *et al.*, 2013). Así mismo, se observó una disminución de esteroides esterificados (ESE) a favor de esteroides libres (ESL) en las harinas cocidas, probablemente al hidrolizarse los ácidos grasos de los ESE produciendo una acumulación de ESL.

Los resultados en los otros subproductos no fueron tan claros. En vísceras de almeja, hubo un incremento de DAG, tanto en harina cocida como secada, pero los AGL incrementaron más en harina cocida, mientras que en la harina secada aumentaron más los lípidos polares no identificados (LPN). Los LPN, probablemente glicerol, fosfatos y cabezas polares derivados de la hidrólisis de FL, son más polares que los FL *per se*, y pueden ser lixiviados durante la cocción; esto ya ha sido documentado en el caldo de cocción de cabezas de camarón (Pérez-Santín *et al.*, 2013). En macarela cocida, el incremento de LPN indica que estos no fueron perdidos tan rápidamente en el caldo de cocción, y pudieron quedar contenidos entre las capas de tejidos, mientras que las vísceras están más expuestas al agua, y es probablemente por esto que los LPN se incrementaron significativamente en las harinas secadas de hacha y calamar. Los resultados indican que la hidrólisis y oxidación de lípidos no son un resultado directo de la cocción o el secado, si no que depende en gran medida de la composición de la materia prima cruda, de la conservación tisular, y probablemente de su contenido de pigmentos.

Un caso interesante es el de vísceras de calamar, con niveles altos de DAG y AGL desde el inicio en la materia fresca. La acumulación de DAG y AGL puede deberse a hidrólisis enzimática, i.e. lipasas, que puede estar activas aun durante el almacenamiento bajo condiciones de congelación (Aubourg, 2001), lo que puede ser particularmente notorio en subproductos que contengan glándulas digestivas, que son fácilmente fragmentadas durante el eviscerado de los organismos. En el caso de calamar, hubo un incremento de AGL y de LPN en las harinas secadas a la

vez que disminuyeron los DAG, mientras que en las cocidas disminuyeron los FL y AGL, probablemente por lixiviación.

A nivel de ácidos grasos individuales, los tratamientos térmicos muestran un efecto significativamente mayor sobre los FL en comparación a los TAG (Yamamoto e Imose, 1989). Esto se debe a que los primeros son más polares y además, cuentan con una mayor proporción de PUFA, que son muy susceptibles a hidrólisis, y posteriormente a peroxidación (Igene *et al.*, 1980). Una vez hidrolizados, los PUFA son más susceptibles de sufrir peroxidación. Sin embargo, los PUFA parecen resistir el proceso de cocción en particular si están unidos a FL o TAG; por otro lado, los procesos térmicos a menor temperatura (55°C) favorecen la estabilidad de los lípidos debido a que se inactivan las enzimas catalíticas (Aubourg, 2001).

La pérdida de ESE después de la cocción no siempre estuvo acompañada de incremento de ESL, como fue el caso de vísceras de calamar y cabezas de camarón, indicando que no solo ocurre hidrólisis de ESE y acumulación de ESL, si no que también puede producir oxisteroles (esteroles oxidados), los cuales no son detectados como ESL por el análisis usado. Los ESE son mayormente depositados como vesículas de grasa en el citoplasma, mientras que los ESL son incorporados en la membranas celulares y pueden ser perdidos cuando estas se desnaturalizan. La cocción puede romper membranas más rápidamente que el secado, y los esteroles hidrolizados con más susceptibles a la oxidación (Shahidi, 1994), y probablemente son perdidos en el caldo de cocción. Por lo tanto, uno de los mayores efectos de la cocción fue la hidrólisis marcada de TAG, FL, y ESE, y probablemente la oxidación parcial de algunos de ellos y formación de LPN, en contraste con el secado, donde la hidrólisis fue menor y hubo una mayor acumulación de AGL en lugar de LPN. Mientras que la cocción desactiva enzimas, el secado fue precedido de molienda, lo que expuso a la materia prima a enzimas autolíticas presentes en las vísceras de los subproductos (Shahidi, 1994); si los fitoesteroles presentes en las vesículas de grasa son hidrolizados, serán rápidamente oxidados por el secado a 60°C (Rudzińska *et al.*, 2009). La correlación

entre los LPN y el dihidrocolesterol ($r = 0.64$; $P < 0.01$) sugiere que el anterior pudiera ser un primer paso de oxidación del colesterol. Algunos fitoesteroles disminuyeron a medida que hubo aumento de AGL, por ejemplo, el estigmasterol que se correlacionó significativamente con estos ($r = -0.40$; $P < 0.05$), indicando que este compuesto probablemente estaba en forma esterificada.

El procesamiento a harina de las materias primas tuvo un efecto negativo sobre los carotenoides totales en las harinas de calamar, hacha y cabezas de camarón, pero no en las harinas de macarela, la cual presentó los niveles más bajo de carotenoides. En contraste con calamar y hacha, donde la cocción provocó una mayor disminución que el secado, los carotenoides de harina cocida de camarón presentaron niveles similares a la secada. La astaxantina se encuentra en forma esterificada en el exoesqueleto y cefalotórax de los camarones (Kantha, 1989) y puede tener diferentes grados de esterificación (monoesteres o diesteres); esto, y el tipo de ácido graso al cual se encuentran esterificado define su labilidad (Yang *et al.*, 2015). Una de las formas de astaxantina esterificada, unida a proteína, es llamada crustacianina. Los camarones cambiaron de color después del calentamiento por cocción, ya que la crustacianina se desnaturaliza y libera astaxantina (Jáuregui *et al.*, 2011), la cual le da el color rojizo al camarón (Parisenti *et al.*, 2011). La astaxantina esterificada presente en el camarón puede ser responsable del bajo decremento de HUFA y acumulación de AGL en cabezas de camarón cocidas, probablemente por su alta capacidad antioxidante (Miki, 1991). Los moluscos no tienen astaxantina esterificada (Kantha, 1989), pero si se encontró fucoxantina y cantaxantina en hacha; la cantaxantina ha sido reportada como más resistente a cocción con vapor que la astaxantina (Choubert y Baccaunaud, 2010) y de hecho, encontramos correlaciones negativas de cantaxantina ($r = -0.43$; $P < 0.05$) y fucoxantina ($r = -0.41$; $P < 0.05$) con AGL, lo que sugiere que estos carotenoides pueden disminuir la hidrólisis de TG y FL.

Los subproductos que contienen gónadas y hepatopáncreas son usualmente ricos en pigmentos, pero también en otros antioxidantes naturales, como catalasa y

glutación peroxidasa, en comparación al músculo (Parrilla-Taylor *et al.*, 2013). Altos niveles de pigmentos y antioxidantes son deseables por que estos puede proteger los HUFA y otros componentes bioquímicos de la oxidación, en particular en presencia de un oxidante fuerte, como es el caso de los metales. Los metales pesados inducen la formación de especies reactivas de oxígeno y peroxidación de lípidos, como ha sido reportado en almeja *Megapitaria squalida* (Cantú-Medellín *et al.*, 2009). Los niveles de mercurio más altos se encontraron en hacha y macarela, y los más bajos en camarón, mientras que el hacha también presentó altos niveles de cadmio. Los bajos niveles de metales en camarón, junto con la astaxantina esterificada, pueden ser los responsables de la baja pérdida de LT y HUFA durante el proceso de cocción o secado y concuerda con la baja producción de productos primarios (HPO) de oxidación. Los HPO se generan y degradan constantemente (Girrotti, 1998), y se ha reportado un contenido de HPO de 49 mg de hidroperóxido de cumeno por 100 g⁻¹ en músculo fresco de jurel (*Trachurus trachurus*) 12 h después de la captura y enhielado (Eymard *et al.*, 2005), que fue cercano a los que encontrado en el presente trabajo para macarela secada. El MDA es un producto secundarios de oxidación, y aún si aumentó en ambas harinas de macarela, sus valores estuvieron dentro de los reportado como “pescado de buena calidad” (Bilen, 2010). En calamar, los altos valores iniciales de MDA concuerdan con lo reportado en tejidos de cefalópodos como resultado de su edad, alta tasa metabólica y baja actividad de enzimas antioxidantes (Zielinski y Pörtner, 2000). El MDA puede afectar la conformación y asociación intermolecular de las proteínas, ya que este aldehído es responsable de la formación de bases de Schiff y entrecruzameinto de proteínas (Schaich, 2008), por lo que los altos valores iniciales en calamar pueden reducir solubilidad de proteínas. La disminución de MDA en harina cocida de calamar probablemente se debe a que el MDA es soluble en agua y se pierde en el caldo de cocción.

8.3 Desempeño zootécnico de camarones alimentados con alimentos que contienen harinas de subproductos.

Cuando se formularon los alimentos para camarones, se sustituyó al 100% la harina y aceite de pescado con la harina de los subproductos: los nutrientes no fueron balanceados a propósito para hacer una comparativa de sustitución de alimentos, en lugar de solo sustituir ingredientes; como consecuencia de esto esperábamos diferencias en el contenido de proteína y lípidos entre alimentos.

El alimento comercial presentó altos niveles de HUFA y el control muy bajos, sin embargo, es importante destacar que el alimento comercial probablemente contenga aceite de pescado, mientras que el control no. Ningún alimento experimental contenía aceite de pescado, por lo que la concentración de ácidos grasos la confirieron las harinas de los subproductos, a las que no se les removieron los lípidos, por lo que su composición de ácidos grasos no se perdió durante el proceso de fabricación. Una excepción fue el alimento con macarela cocida, que tuvo niveles significativamente más bajo de HUFA en comparación al alimento con macarela secada.

Se sabe que la calidad del alimento puede tener un efecto importante en la supervivencia del camarón (Rodríguez *et al.*, 2000). En el presente trabajo, la mayor mortandad de organismos que se presentó en el tratamiento comercial probablemente esté asociada con la poca resistencia al estrés por manipulación, dado que dicha mortandad ocurrió principalmente durante las biometrías realizadas cada 15 días, aún cuando el manejo fue el mismo para todos los tratamientos. Una tolerancia reducida al estrés no parece ser efecto de mudas, dado que no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla XXII). La baja tolerancia a estrés en los organismos que consumieron el alimento comercial pudiera estar relacionada con la calidad y no con la cantidad de compuestos presentes en el alimento, tales como los carotenoides, ya que se sabe que la capacidad antioxidante de cada carotenoide es variable (Niu *et al.*, 2014). En un experimento paralelo, se determinó que los organismos que consumieron los

alimentos con harinas de calamar y hacha tenían una mayor carga adenílica y niveles de fosfágenos, lo que les confería un mejor estatus energético que los que consumieron el alimento comercial, y por consiguiente una mayor capacidad de tolerar el estrés por manipulación (Licona-Jain, 2015).

Otro factor que pudo afectar la supervivencia de los organismos que consumieron el alimento comercial fue la baja digestibilidad de materia seca y proteína, probablemente ocasionada en parte por su alto contenido de cenizas, característico de harinas de pescado quemadas (Opstvedt *et al.*, 1984). A nivel de estanque, la supervivencia en cultivo es cercana a 80% (Solís-Guzmán, 2008) debido a que los organismos están expuestos a cambios en las condiciones climáticas y de calidad del agua, enfermedades y canibalismo. Sin embargo, bajo condiciones controladas en laboratorio, como fue realizado el bioensayo en este trabajo, se esperan supervivencias mayores a la ocurrida en el tratamiento comercial, dado que se monitorean los parámetros fisicoquímicos del agua para evitar cambios súbitos, el alimento es suministrado según la demanda de los organismos y se mantiene la higiene de los acuarios. La baja supervivencia de los camarones que son mantenidos con alimento comercial en condiciones de laboratorio, en comparación a los estanques, puede deberse a la presencia de alimento natural en estos últimos, mientras que en laboratorio los ensayos se realizan con agua clara.

En contraste con la supervivencia para el alimento comercial, la supervivencia fue alta en los camarones con el alimento control, lo cual es sorprendente porque el control no tenía aceite de pescado y sus niveles de DHA y otros HUFA eran 10 veces inferiores que en los otros alimentos (ver Tabla XX). Esto indica que los bajos niveles de DHA contenidos en el alimento control (3 g kg^{-1} de alimento) fueron suficientes para lograr una adecuada supervivencia durante el periodo de experimentación, sin necesidad de agregar aceite de pescado, y pone en duda la necesidad de agregar aceites con altas concentraciones de DHA (como el aceite de pescado) en el alimento para camarones. Esto contrasta con lo

reportado por Izquierdo *et al.* (2006) quienes en un experimento de 8 semanas obtuvieron una supervivencia en *L. vannamei* de 56% con un alimento sin aceite de pescado (DHA de 2.6 g kg⁻¹ de alimento), en comparación con 96% de supervivencia en un tratamiento con un nivel mayor de DHA (6.1 g kg⁻¹ de alimento). El alimento control también presentó los niveles más bajos de carotenoides, y se ha reportado que estos afectan el crecimiento y la resistencia a estrés y a enfermedades (Liñan-Cabello *et al.*, 2002). La dieta comercial presentó valores altos de carotenoides y DHA, pero baja supervivencia. Es posible que existan micronutrientes necesarios para el camarón que no fueron analizados aquí, y que estuvieron presentes en el alimento Control.

A diferencia de la supervivencia, el crecimiento fue bajo tanto para la dieta control como para la dieta comercial, y mucho más alto en cualquiera de las dietas a base de subproductos marinos. El crecimiento en estos dos tratamientos fue menor incluso que la dieta a base de hacha, que presentó los menores niveles de proteína (35-39% vs. 29%, respectivamente), lo cual indica que el contenido de proteína por sí solo, no es determinante en el crecimiento en camarón. El mayor peso final se obtuvo con vísceras de calamar cocidas, aun si los niveles de proteína fueron mayores en macarela (38% vs. 41-43%). El incremento en peso en camarones alimentados a base de calamar en comparación con macarela, tampoco está determinado por el consumo de alimento, dado que los camarones alimentados con macarela presentaron tanto un consumo como un FCA mayor. Por otro lado, la harina de sardina con la que se elaboró el alimento control contenía 65% de proteína pero también 10% de lípidos, mientras que la harina de macarela entera secada presentó una concentración menor de proteína (52%) y ligeramente superior de lípidos (16%).

En un estudio a nivel de diversas granjas de engorda de camarón en Sinaloa y Sonora se observó que las dietas comerciales con mayor contenido de lípidos promovían mayor crecimientos (Magallon-Barajas, *com. pers.*). La harina de macarela secada resultó en camarones con mayor peso final y tasa de crecimiento

y mejor eficiencia proteica, en comparación con los tratamientos control y comercial, ambos elaborados con harinas de pescado producidas industrialmente. La harina de macarela secada produjo mejores resultados que la cocida a nivel de desempeño durante la engorda, lo que indica que el secado de harina de pescado expone menos la materia prima al deterioro, como se observa en los mayores niveles de HUFA en harina secada, probablemente por oxidación, que puede producir anomalías en el hepatopáncreas y, a la larga, afectar el crecimiento (Laohabanjong *et al.*, 2009). El secado (sin cocción) es un proceso más rápido y económico que incluso pudiera reducir los costos de producción del alimento, además, el uso de harina sin cocción en alimento para *L. stylirostris* produjo peso final y FCA similares a un alimento elaborado con harina comercial de pescado (Acosta-Ruiz *et al.*, 2011).

Otros trabajos donde se han usado subproductos similares a estos para la sustitución de la harina y aceite de pescado de la dieta de camarón blanco, han sido el de Navarro *et al.* (2013) quien elaboró alimentos a base de harina de vísceras de *Atrina maura* con un alto contenido de lípidos, y que observaron mayores pesos finales sin afectar la supervivencia, en comparación a un alimento de referencia elaborado con harina de pescado. Martínez-Vega (1997) probó harinas de diferentes partes corporales de calamar (*Dosidicus gigas*), entre ellas vísceras, en alimento para camarón blanco y observó que el peso final de los organismos del tratamiento de harina de vísceras de calamar fue similar al alimento control con harina de sardina. Cabe mencionar que la harina de dicho trabajo se produjo mediante secado al sol hasta por 5 días y su almacenamiento fue a temperatura ambiente. Reyes-Becerra (2011) encontró que la sustitución total de la harina de pescado por harina de subproductos cocida (5 min/100°C) de *A. ventricosus* en la dieta de camarón blanco no provocó diferencias significativas en el peso final de los organismos cuando se utilizó un alimento control a base de harina de pescado (sardina entera). De los trabajos anteriores, sólo en el de Navarro *et al.* (2013) se obtuvo mayor crecimiento de los camarones usando subproductos. Dicho trabajo y este fueron efectuados en la misma planta de alimentos, poniendo precaución en

cada paso de procesamiento, almacenamiento y descongelado para garantizar la calidad de las materias primas. Otras diferencias podría deberse a la gran heterogeneidad de la composición física y bioquímica de las materias primas, tales como especie, estado fisiológico, tejido, parte corporal, procesos aplicado a la materia prima, etc. (Fenucci, 2007).

En contraste con los mejores resultados con macarela secada, las vísceras de calamar cocido resultaron en un mejor desempeño, como se observa por un mayor FCA y crecimiento de los camarones. Según los resultados de este trabajo, parece ser necesario aplicar algún proceso adicional al secado cuando se manejan vísceras de calamar, en este caso cocción, con la finalidad de mejorar la utilización por los camarones. Por ejemplo, los lípidos en tejidos de calamar se encuentran estrechamente unidos a las matrices proteicas (Rubio-Rodríguez *et al.*, 2012) y parecen necesitar de calor húmedo, como la cocción, para mejorar su extracción y detección. Como se menciona antes, los altos niveles de MDA en calamar fresco pueden reducir solubilidad y extracción de proteínas, por lo que se requiere de cocción para hacerlas disponibles. Al respecto, se observó que las harinas secadas presentaron un FCA cercano a 1.9, mientras que los tratamientos con harinas cocidas mostraron FCA menores, más similares al comercial y control. Un FCA de 1.9 esta por encima de lo recomendado por Davis *et al.* (2004) para *L. vannamei*, y esto significa que la cocción puede mejorar la utilización de los nutrientes de un ingrediente, lo cual concuerda con los valores de la tasa de eficiencia proteica (TEP).

A diferencia con lo que ocurre en harina de pescado, se he demostrado que un grado de cocción similar a la usada en el presente trabajo (95°C/10 min) no disminuye el contenido de aminoácidos en calamar (Fu *et al.*, 2007). El aminoácido más limitante para crecimiento en camarón es la metionina (Forster y Dominy, 2006), que estuvo en un rango de 2.8 a 3.7% en las harinas de vísceras, valores cercano a lo encontrado en harinas de macarela entera (2.3-2.6%), e incluso más altos a lo reportado por Terrazas-Fierro *et al.* (2010) para harina de sardina (1.2%),

harina de subproductos de atún (1.0%) y concentrado proteico soluble de pescado (1.6%), lo cual sugiere que el hacha y calamar son una fuente de metionina tan buena como el pescado. En contraste, se han reportado bajos niveles de metionina en otros ingredientes elaborados por procesos industriales y que son utilizados en alimentos para camarón, como la pasta de soya (0.5%) (Forster y Dominy, 2006) o harinas de atún (1.5%), arenque (1.6%) y sardina europea (1.9%) (Tacon, 1987).

Por otro lado, se ha reportado que la harina de calamar contiene factores promotores de crecimiento que son particularmente efectivos para camarón (Cruz-Ricque *et al.*, 1987). De acuerdo con nuestros resultados, estos factores promotores de crecimiento son más efectivos cuando las vísceras de calamar son cocidas, en lugar de solo secadas. Mendoza *et al.* (1997) sugiere que el componente promotor para camarón puede ser de origen esteroidal. Guillaume *et al.* (1989) concluyeron que un posible modo de acción de dichos promotores es acelerar el proceso de muda, o mejorar la digestión y/o absorción de nutrientes. Al respecto cabe mencionar que los resultados de la presente tesis no mostraron mayor cantidad de mudas, ni la digestibilidad del alimentos o harinas de calamar fueron diferentes al resto, por lo que el efecto promotor de crecimiento parece tener otra ruta de acción.

El alimento con hacha cocida mostró también mejorar el crecimiento, ya que al final del experimento encontramos camarones más grandes en comparación a lo que consumieron hacha secada. Este efecto de la cocción parece aplicar en las vísceras de hacha y calamar, sugiriendo que los factores promotores de crecimiento son compartidos por los moluscos y es necesario aplicar cocción (~100°C) en agua para mejorar su efecto. Estos factores de crecimiento aparentemente no están relacionados con la palatabilidad y mayor consumo de alimento, dado que el alimento más consumido fue el de macarela secada.

El coeficiente de utilización digestiva aparente (CUDA), que representa la proporción del ingrediente que fue absorbida por el tracto intestinal del organismo en cuestión (Lin *et al.*, 2004), fue menor para los alimentos control y comercial, ligado a su alto contenido de cenizas, ya que junto con un alto contenido de fibra,

estos son los principales factores que limitan la digestibilidad de materia seca en el alimento para camarón (Yang *et al.*, 2009). No es común encontrar valores de CUDA para algún nutriente por encima de 100%, no obstante, esto ya se ha reportado en otros trabajos (Cruz-Suárez *et al.*, 2001; Rivas-Vega *et al.*, 2009). Cruz-Suárez *et al.* (2009) establece que la digestibilidad de algunos aminoácidos puede ser afectada si estos son solubles en agua, como lisina y metionina. Así mismo, CUDA poco comunes pueden ser resultado interacciones entre los ingredientes o variaciones del material endógeno, como la membrana peritrófica de las heces del camarón (Akiyama *et al.*, 1989).

La digestibilidad también puede ser afectada por la temperatura a la cual se procesan los ingredientes, lo cual puede producir daño en los aminoácidos y/u ocasionar reacciones de Maillard, lo que evita el uso apropiado de los nutrientes por el organismo (Terrazas-Fierro *et al.*, 2005). Lo anterior pudiera explicar en cierta medida las digestibilidades arriba del 100% en las harinas de calamar y macarela, así como los CUDA superiores para algunos nutrientes en harinas secada en comparación a las cocidas. En contraste, la aplicación de procesos térmicos en la producción de harinas de origen vegetal es esencial, ya que esto degrada estructuras proteicas y paredes celulares que encapsulan los almidones, y por consiguiente facilita la gelatinización de estos; además de reducir antinutrientes que son comunes en las semillas de legumbres (Rehman y Shah, 2005; Siddhuraju y Becker, 2005). Cabanillas-Beltrán *et al.* (2013) probaron la digestibilidad de harinas de granos de leguminosas como frijolillo (*Rynchosia minima*) y gandul (*Cajanus cajan*) en alimentos para *L. vannamei*, observando que las harinas sin procesamiento térmico presentaron menores CUDA para materia seca, proteína cruda, lípidos crudos y aminoácidos en comparación con harina procesada con calor húmedo (121°C) durante 45 min. Así mismo, cuando el proceso térmico se prolongó a 90 min, también se observó una disminución de los CUDA; los resultados de crecimiento mostraron un comportamiento similar a los CUDA. Resultados similares en digestibilidad de aminoácidos fueron reportados por Terrazas *et al.* (2005) utilizando harinas de pescado sometidas durante 0, 30, 60 y 90 min a condiciones

de autoclave (121°C/1 kg cm²), en donde a partir de los 30 min de procesamiento se observó una disminución significativa de la digestibilidad de aminoácidos. Opstvedt *et al.* (2003) realizaron bioensayo de digestibilidad de harinas de arenque con diferentes procesamientos en salmón (*Salmo salar*), en donde observaron que, a nivel de planta piloto, las temperaturas de 70-80°C afectan en menor grado la digestibilidad (93%) comparado con harinas elaboradas a 100°C (90%), y a su vez, ésto también se reflejó en la digestibilidad de los alimentos elaborados con estos ingredientes (91% y 87% respectivamente).

La digestibilidad de ácidos grasos puede ser afectada por la longitud de su cadena, número de insaturaciones y nivel de incorporación en la dieta, entre otros factores (Lin *et al.*, 2006). Resultados similares al presente trabajo han sido reportados por Oujifard *et al.* (2012), quienes utilizando un alimento a base de harina y aceite de pescado, obtuvieron CUDA superiores a 80% para PUFA y HUFA individuales. Sin embargo, al reemplazar gradualmente la harina de pescado por concentrado de proteína de arroz, los CUDA disminuyeron linealmente. En *P. monodon*, se observaron los más altos CUDA para EPA y DHA, pero también se observaron altos CUDA para todos los ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos saturados de cadena más larga fueron los menos digeribles, con digestibilidades decrecientes a medida que la longitud de la cadena aumentaba (Glencross *et al.*, 2002). Las diferencias de digestibilidades entre ácidos grasos pudiera deberse a que las lipasas digestivas pueden tener una mayor actividad hacia ciertos ácidos grasos, y a que la tasa y eficiencia de absorción entre ácidos grasos pueden diferir (Gunasekera *et al.*, 2002).

8.4 Efecto de alimentos conteniendo harinas de subproductos sobre la composición química de camarones.

Los valores de humedad en músculos encontrados en el presente trabajo fueron similares a lo reportado por Zhou *et al.* (2007) y Zhong *et al.* (2011) en *L. vannamei* de cultivo, y Puga-López *et al.* (2013a y 2013b) para organismo silvestres. En

contraste, el rango de valores de proteína cruda en los trabajos antes mencionados están ligeramente por debajo de lo encontrado en el presente trabajo, los cuales estuvieron más cercanos a lo reportado para organismo silvestres (750 g kg^{-1} ; Puga-López *et al.*, 2013a), una característica deseable para organismo cultivados desde el punto de vista de nutrición humana. Los lípidos totales en músculo fueron más altos ($106\text{-}140 \text{ g kg}^{-1}$) que los reportados en músculos de *L. vannamei* (González-Félix *et al.*, 2002a) y *Fenneropenaeus indicus* (Ouraji *et al.*, 2010) cultivados, y *P. borealis* (Heu *et al.*, 2003) y *P. monodon* (O'Leary y Matthews, 1990) silvestres. Los alimentos de subproductos en general promovieron mayor acumulación de lípidos en músculo que el alimento comercial, aun si el alimento tenía cantidades equiparables de EE; esto podría indicar que en el alimento comercial los lípidos no son de la calidad deseada, o que se usan más lípidos para satisfacer la demanda energética en estos camarones. Las diferencias de lípidos de la dieta son más evidentes en la composición de lípidos del hepatopáncreas, como también fue evidenciado por D'Abramo (1989). Es posible que la transferencia de lípidos del alimento al hepatopáncreas, y después al músculo, haya sido comprometida por una posible deficiencia en FL para la formación de lipoproteínas (González-Félix *et al.*, 2002a) en caso del alimento comercial. En el presente estudio hubo 2% de FL aportados por la lecitina de soya en todas los alimentos experimentales, pero no se sabe cuanto contenía el alimento comercial. Las lipoproteínas también están conformadas por colesterol; sin embargo, los menores niveles de colesterol en los alimentos con harinas de hacha parecen ser suficientes para promover una adecuada transferencia de lípidos del hepatopáncreas al músculo (D'Abramo, 1989), lo cual una vez más indica que los valores base de colesterol pueden estar sobreestimados en las dietas de camarones.

Aun con la variación en los niveles de esteroides y particularmente, del colesterol en los distintos tratamientos, se encontraron niveles similares de colesterol (95 a 97%) en músculo de camarón. Niveles similares de colesterol han sido previamente reportado previamente para músculo de camarón (Krzynowek y Panunzio, 1989; Tsape *et al.*, 2010). Esperábamos menores concentraciones de

colesterol en los músculos de los tratamientos con hacha, dado que contenían 51-54% de colesterol en comparación con los otros tratamientos (76-87%), debido a que los camarones no pueden sintetizar colesterol *de novo* (Teshima y Kanazawa, 1971), pero los niveles encontrados fueron de ~95%, bastante cercanos al resto de los tratamientos (96-97%), aunque significativamente menores. Los niveles de colesterol en los alimentos con hacha parecen ser suficientes para satisfacer las necesidades para crecimiento, ya sea usando solo el colesterol disponible, o bien, haciendo uso de precursores de colesterol como β -sitosterol (Teshima *et al.*, 1983). Gong *et al.* (2000) estableció que los requerimientos de colesterol para *L. vannamei* son del 0.14% del total de la dieta, cuando hay 1.5% de FL; este nivel de colesterol es cubierto por el aporte de las harinas de subproductos, ya que ambas harinas de hacha contienen alrededor 0.10-0.16% de colesterol en relación al total de la dieta, además de 0.04-0.06% de fitoesteroles; y las harinas de vísceras de calamar y macarela contienen 0.4-1.0% de colesterol.

Los alimentos con mayores niveles de HUFA produjeron mayor acumulación de HUFA en músculo. Los niveles bajos de DHA y otros HUFA en el alimento control provocaron una baja acumulación de éstos en el músculo (4.2% y 9.8% del total de ácidos grasos, respectivamente), en comparación el resto de los tratamientos (Tabla XXV). Los camarones no son capaces de sintetizar HUFA, y se ha observado que enriquecer el alimento comercial con DHA incrementa el desempeño de los camarones durante el cultivo y los hace más tolerantes al estrés (Mercier *et al.*, 2009). Por lo general, se ha propuesto que se requiere por lo menos 1.5% de DHA (del total de ácidos grasos) en el alimento (Hurtado *et al.*, 2006). El alimento comercial contenía 7% (del total de ácidos grasos) o 20 g kg⁻¹ de DHA, concentraciones similares a los niveles de DHA en los alimentos con hacha secada o cocida, 21-22 g kg⁻¹ (o 5% del total de ácidos grasos), y calamar secado o cocido, 19-20 g kg⁻¹ (o 10% del total de ácidos grasos). El alimento de macarela secada presentó una proporción de DHA, similar al comercial (6.5% vs 7.1%), pero menor concentración (17 vs 20 g kg⁻¹), mientras que con macarela cocida la diferencia fue más notoria (3.6 % del total de ácidos grasos o 12 g kg⁻¹).

Sin embargo, como se discutió antes, la supervivencia y crecimiento fueron mejores con los subproductos en comparación al control, lo que era esperado dado su bajo contenido de DHA (0.9% del total de ácidos grasos o 3 g kg^{-1}), pero también lo fue con el comercial, aun con un mayor contenido de DHA. Lo anterior podría sugerir que los niveles de DHA están sobrevaluados en el alimento para camarón, y que la probable ventaja de incluir altos niveles de DHA se deban a otros factores, como la inclusión de FL, colesterol, carotenoides, o incluso, otros ácidos grasos. Incluso, es posible que la cantidad de DHA este asociada a la forma de su esterificación. Por ejemplo, se ha descrito que el DHA unido a FL se encuentra más disponible para el organismos, que aquel que esta unido a los TAG (Gisbert *et al.*, 2005). El alto contenido de FL en las vísceras de calamar podría explicar en este caso, la mejor incorporación de DHA en músculo de camarón. Así mismo, desde el enfoque de salud humana, es importante que los ácidos grasos se encuentren en forma esterificada, ya que consumo de ácidos grasos libres se ha asociado con la sobreexpresión del factor de necrosis tumoral en hígado (Feldstein *et al.*, 2004).

La concentración de HUFA en músculo disminuyó significativamente con el uso del alimento con harina de macarela cocido en comparación con el de harina de macarela secada; estas disminuciones fueron en 21% de ARA, 38% EPA, 20% DHA y 28% en HUFA totales. Aubourg (2001) reporta que después de la cocción y el almacenamiento del pescado hay una disminución de HUFA, principalmente por la hidrólisis de FL, y formación de compuestos de peroxidación lipídica. La disminución de HUFA en músculo no se presentaron en los tratamientos donde los camarones consumieron harinas de hacha y calamar cocidas, lo cual posiblemente se deba a la gran cantidad de carotenoides presentes en estas (Tabla XV), que protegen a los HUFA durante la cocción. Los camarones que consumieron bajos niveles de HUFA (2.4% en control y 5.8% en macarela cocida) aparentemente acumularon más 18:1n-9 en músculo, lo que pudiera indicar una sobreactividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa, causada por una deficiencia de ácidos grasos esenciales (Tocher *et al.*, 1996).

En general, los camarones alimentados con alimentos a base de calamar, hacha y macarela secada presentaron un perfil de ácidos grasos en el músculo similar al que presentan camarones silvestres (Bragagnolo y Rodríguez-Amaya, 2001; Ouraji *et al.*, 2011). Lo anterior podría indicar que fabricando harina de pescado mediante secado (sin cocción), así como usar harinas de vísceras de moluscos, podría otorgarle al camarón un perfil de HUFA similar al de su dieta en medio silvestre, lo cual es de interés desde el punto de vista de nutrición humana. Esto debe de ser evaluado a una escala mayor y con diferentes harinas de pescado, e incluso otros subproductos marinos, ya que la menor pérdida en HUFA en las harinas producidas por secado, en comparación a las que se fabrican con cocción, podría disminuir o eliminar la inclusión de aceite de pescado, así como los costos asociados con esto.

El contenido de carotenoides en hepatopáncreas es un claro reflejo de los carotenoides en el alimento; los carotenoides son acumulados en ese tejido para ser movilizados vía hemolinfa a otros tejidos para pigmentación y como antioxidante (Wouters *et al.*, 2001). Sin embargo, la gran diferencia del contenido de carotenoides entre el alimento comercial y el control, se perdió a nivel de hepatopáncreas y músculo, indicando una baja absorción y/o elevada pérdida de los carotenoides del alimento comercial. Primero, la absorción de carotenoides en camarón esta limitada por la presencia de FL en el alimento, debido que la astaxantina tiene cierta polaridad que le otorgan los grupos hidroxilos, lo cual la hace afín a las cabezas polares de los FL (Britton, 1995), los cuales puede actuar como emulsificadores, facilitando la absorción de compuestos liposolubles (Coutteau *et al.*, 1997). En segundo lugar, se desconoce el tipo de carotenoide que contiene el alimento comercial, y debido a que la capacidad antioxidante de cada uno de estos compuestos es diferente, es probable que un carotenoide de baja capacidad antioxidante se gaste más rápidamente; por ejemplo, para causar un efecto similar de 100 mg kg⁻¹ de astaxantina son necesarios 250 mg kg⁻¹ de β-caroteno, lo cual fue probado en *P. monodon* (Niu *et al.*, 2014). Ya a nivel de músculo, solamente se encontraron carotenoides en camarones alimentados con

subproductos. Las concentraciones de carotenoides totales en músculo encontrada en los camarones que consumieron alimentos con harinas de calamar y hacha fueron similares a lo reportado por Parisenti *et al.* (2011) en *L. vannamei*. De acuerdo con los resultados de Niu *et al.* (2009) y Ju *et al.* (2011), la pigmentación de los camarones del presente trabajo fue baja, incluso en aquellos en donde los carotenoides fueron detectables, ya que de según estos autores, son necesarios al menos 100 mg kg⁻¹ de astaxantina en el alimento para lograr un contenido de carotenoides en músculo (30-60 mg kg⁻¹) y pigmentación óptima.

El análisis microbiológico mostró que los camarones estuvieron libres de patógenos de coliformes, lactobacilos, lactococos y del género *Vibrio* (asociado al Cólera), asociados a infecciones del tracto gastrointestinal del humano (Colwell, 2004), independientemente del tratamineto. El *Vibrio* en particular, toma al camarón como hospedero, utiliza la quitina del exoesqueleto como fuente de nutrientes y superficie de adhesión (Vezulli *et al.*, 2010). Por otro lado se detectó la presencia de levaduras marinas y bacterias heterótrofas, este tipo de microorganismos suelen ser un componente dietario importante para detritívoros, ya que los nutrientes del alimento no ingerido son reciclados por estas bacterias, produciendo biomasa disponible como alimento para el camarón (McGraw, 2002); también se sabe que algunas levaduras marinas, como *Debaryomyces hansenii*, pudieran actuar como probióticos en camarón (Pacheco *et al.*, 2012).

8.5 Producción de huevo por gallinas alimentadas con subproductos.

La inclusión de harina de pescado es bastante común en avicultura de carne, con inclusiones del 10% en la dieta para pollos en etapas iniciales. Por otro lado, en aves de postura, si es que se utiliza, las inclusiones son menores al 5%, con la finalidad de evitar sabores y olores no deseados en huevos (Ravindran, 2013) y para mantener constante el consumo de alimento de las gallinas (Cornejo *et al.*, 2008).

La adición de 5% de harinas de subproductos marinos cocidas no disminuyó significativamente el consumo de alimento en relación al control, y las gallinas alimentadas con 5% de harina de cabezas de camarón cocida o con 5% de harina de macarela secada, presentaron mayor ingesta de alimento. En otros estudios donde se han probado otros ingredientes marinos, no se han encontrado efectos significativo sobre el consumo de alimento cuando se usó 5-10% de inclusión de microalga *N. gadinata* secadas por aspersion durante 28 días (Bruneel *et al.*, 2013), 10-20% de harina comercial de cabezas de *Penaeus sp.* durante 28 días (Carranco *et al.*, 2003), o 3-6% de harina de *Pleuroncodes planipes* (escaldada a 60°C por 5 min y secadas a llama directa a 118°C) durante 21 días (Carrillo *et al.*, 2005). Se ha propuesto que las aves poseen un sentido del gusto poco sensible (Cornejo *et al.*, 2008), pero que el agregar mayores inclusiones de ingredientes marinos podría disminuir la producción de huevo y colateralmente, aumentar los niveles de agua en las heces, provocando diarrea en las gallinas. Es destacable que si se presentaron diferencias entre las gallinas alimentadas con distintos subproductos por proceso de producción (cocido vs. secado): Para cabezas de camarón el consumo fue 7% mayor con harina cocida, y en macarela el consumo fue 7% mayor con harina secada. Esto indica que las gallinas probablemente tienen una palatabilidad mayor a la que se cree.

Aun si el consumo de alimento fue mayor para camarón cocido y macarela secada, los resultados del presente trabajo en cuanto a postura indican que los mejores resultados se obtuvieron con hacha secada y los peores, con hacha cocida, indicando una vez más la importancia del proceso de producción. La producción de huevo diaria fue similar entre hacha secada, macarela secada, camarón secado y control (0.63-0.57 kg), y menor para hacha cocida y macarela cocida (0.55-0.54 kg). La producción es destacable en comparación con lo reportado por Carranco *et al.* (2003) y Carrillo-Domínguez *et al.* (2005), quienes observaron valores de 70% de postura, con un consumo de 110 g por día. De acuerdo con lo establecido por Baucells *et al.* (2000), los resultados de postura y consumo de alimento en la presente tesis son adecuados para un experimento en donde se evalúan

ingredientes alternativos, ya que no hubo problemas de salud en las gallinas (diarreas, vomito negro, neumonías), no se presentaron aparentes problemas de palatabilidad, la postura nunca bajo del 80% y el consumo de alimento nunca disminuyó en relación al control, aun cuando se incluyeron ingredientes de origen marino, a los cuales las gallinas no estaban habituadas.

De acuerdo con la Norma Mexicana para productos avícolas (2004) y considerando el peso de los huevos del presente trabajo (55-59 g), estos entran en la clasificación de huevo mediano, la cual comprende huevos de 55 a 60 g; las otras clasificaciones son extra grande (>64 g), grande (60-64 g), chico (50-55 g), y canica (<50 g). Se ha observado que la inclusión de 2% de aceite de arenque por 55 semanas en el alimento para gallinas puede reducir el peso del huevo (González-Esquerra y Leeson, 2000). Castillo-Badillo *et al.* (2005) usando 2% de aceite de atún por 28 días observaron una disminución de 7% del peso del huevo en relación al control (sin aceite de pescado), de 70.5 g a 63.4 g, lo que pudiera deberse a que los HUFA n-3 disminuyen los niveles de TAG en sangre, limitando la disponibilidad de lípidos para la formación de la yema (Van Elswyk, 1997); con los ingredientes aquí utilizados no se presentó la problemática antes mencionada.

A nivel de la composición del huevo entero, solo se observaron diferencias significativas a nivel del EE, con la harina de macarela cocida produciendo huevos con menos EE. Debido a que a totalidad de los lípidos de huevo están contenidos en la yema (Grobas y Mateos, 1996), los trabajo al respecto están enfocados a esta estructura, más que al contenido de lípidos en huevo entero como se analizó aquí, lo que dificulta la comparación. No obstante, Anderson (2013) determinó que el valor de EE en huevo de gallinas Bovans white es de 35%, lo que concuerda con los resultados del presente trabajo. El contenido de LT en la yema encontrado en el presente trabajo concordó con lo reportado por Milinsk *et al.* (2003), quienes encontraron 41-44 g 100g⁻¹ utilizando el mismo método de extracción. La falta de una diferencia mayor de EE en huevos contrasta con los niveles mayores de EE en las harinas de subproductos cocidos que presentaron mayores cantidades que los

secados. Al respecto, numerosos autores señalan que el contenido de lípidos en yema es estable y que difícilmente varía en relación al agregar una fuente de lípidos (Baucells *et al.*, 2000; Milinsk *et al.*, 2003; Carrillo-Domínguez *et al.*, 2005; Ramasamy *et al.*, 2009; Coorey *et al.*, 2015). Sin embargo, un excesivo aporte de lípidos en la dieta puede disminuir la producción de huevo al producir saciedad antes y/o al reducir las concentraciones de vitamina E en plasma y tejidos (debido a que es usada como antioxidante para proteger los HUFA), ya que para la formación del huevo la gallina requiere el doble de la reserva en el hígado (Surai y Sparks, 2000). En el presente trabajo no se presentó esta problemática, ya que la concentración de HUFA en el alimento fue al menos tres veces inferior que en los trabajos de González-Esquerro y Leeson (2000) y Castillo-Badillo *et al.* (2005), quienes agregaron 2% de aceite marino al alimento. Los otros parámetros analizados quedaron dentro de lo reportado anteriormente: La humedad en huevo entero concuerda con lo reportado por Sauveur (1988), quien menciona que el agua conforma el 90% de la clara y el 50% de la yema. El contenido de proteína cruda en los huevos experimentales esta dentro del rango reportado por Grobas y Mateos (1996), entre 46 y 49%. El contenido de cenizas 4%, lo que corresponde con lo reportado por Benjumea y Gómez (2010) y Ramírez *et al.* (2010).

Hasta hace 20 años, la alternativa para el enriquecimiento del huevo con ácidos grasos n-3 ha sido el uso de semillas o aceite de linaza, con niveles de hasta el 20% de 18:3n-3 en la dieta (Ferrier *et al.*, 1992). Diversos trabajos han demostrado su efectividad en el enriquecimiento del huevo con PUFA n-3, no obstante, la conversión del 18:3n-3 a HUFA n-3 es baja, menor al 7% (Aymond y Van Elswyk, 1995; Ferrier *et al.*, 1995; Scheideler y Froning, 1996). Después, con la intención de aumentar las características benéficas del huevo para la nutrición humana del huevo se ha usado aceite de pescado, en niveles de 1 a 6% de la dieta, logrando aumentar al menos al triple el contenido de EPA y DHA en comparación a ingredientes vegetales terrestres (Baucells *et al.*, 2000; González-Esquerro y Leeson, 2000; Gillingham *et al.*, 2005). Se propuso que a diferencia del 18:3n-3 que tenía una baja conversión a DHA en huevos, el EPA en el aceite de pescado podía ser

transformado a DHA y acumulado en los FL de la yema (González-Ezquerro y Leeson, 2001). En el presente estudio, aún si la mayoría de los alimentos tenían iguales o mayores cantidades de EPA que DHA (con excepción de calamar seco), se presentó una concentración de DHA mucho mayor en comparación al EPA, tanto en LN como en LP en todos los tratamientos. A nivel de salud para el consumidor, la ingesta diaria recomendada de HUFA n-3 es 600 mg al día, donde al menos 220 mg de esto deben corresponder a DHA (Kris-Etherton *et al.*, 2002). De acuerdo con los resultados de este trabajo, un huevo del tratamiento control aportaría a la dieta humana 22 mg de HUFA n-3, mientras que los tratamientos con harinas de vísceras aportarían 112-145 mg de HUFA n-3, los de los tratamientos con camarón 58-87 mg y aquellos con macarela ~68 mg. El 18:2n-6 y la suma de PUFA n-6 en general fue mayor en los huevos control, por lo que la relación n-6/n-3 rondó 10:1 tanto en LN como en LP, mientras que en los huevos de los tratamientos con calamar la relación n-6/n-3 fue de aproximadamente 3:1 en LN y 2:1 en LP, esto último más cercano a las recomendaciones de Simopoulos (2000), quien menciona que esta relación debe ser de 1 a 2:1, ya que a medida que esta se incrementa, también aumenta el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2.

Aún si los niveles de colesterol en el alimento fueron muy diferentes, con valores significativamente mayores en harinas de calamar y menores en el control, el contenido de colesterol en huevo no fue afectado. El colesterol está estrechamente relacionado con las necesidades nutricionales y/o estructurales para el desarrollo del embrión (Elkin, 2006), por lo que es uno de los componentes más estáticos en la composición del huevo (Hargis, 1988). Los niveles de colesterol en huevo tradicionalmente se consideran altos, en este trabajo rondaron en 1.3 g 100 g⁻¹ en todos los tratamientos, similar a lo reportado por Castillo-Dominguez (2004) y Carrillo-Domínguez *et al.* (2005), con 1.3-1.4 g 100 g⁻¹; comparativamente, los niveles en carne de res son de 0.2-0.4 g 100 g⁻¹ (Uzcátegui-Bracho *et al.*, 2008), 0.2-0.3 g 100 g⁻¹ en carne de cerdo (Reitmeier y Prusa, 1987) y 0.1-0.2 g 100 g⁻¹ en músculo de camarón (Casas-Valdez *et al.*, 2006; Krzynowek y Panunzio, 1989), debido a esto se recomienda limitar el consumo de huevo en personas con

incidencia de enfermedades cardiovasculares, que en Latinoamérica representan el 31% del total de las defunciones (Tudela, 2002). Se ha propuesto cambiar la dieta de las gallinas para disminuir el colesterol en el huevo: por ejemplo, se han usado inclusiones de 10-30% de aceites vegetales en la dieta, como cártamo y linaza, dado que estos no contienen colesterol; sin embargo, con esta dieta se observaron incrementos en el contenido de colesterol en yema (Combs y Helbacka, 1960; Weiss *et al.*, 1964). Después se descubrió que niveles similares de inclusión de diferentes fuentes lipídicas vegetales durante un mes provocaban efectos variados sobre el contenido de colesterol en yema, por ejemplo, el aceite de cártamo y coco elevaban el colesterol, y el aceite de maíz lo disminuye (Weiss *et al.*, 1967; Bartov *et al.*, 1971). También se han empleado harinas de origen vegetal en la dieta, como alfalfa al 7% por 84 días (McNaughton, 1978) y cebada al 10% por 8 semanas (Beyer y Jensen, 1993), pero sin efectos significativos sobre el contenido de colesterol en yema. Elkin y Lorenz (2009) enriquecieron la dieta con fitoesteroles (campesterol y β -sitosterol) y observaron que las concentraciones del primero no superaron el 1% del total de esteroides y solo trazas del segundo pudieron ser detectadas. Los resultados de ese estudio son similares a los de la presente tesis en relación a los fitoesteroides en huevo. La baja absorción de fitoesteroides en la gallina pudiera deberse a que estos son hidrofóbicos y tienden a formar cristales estables, lo que los hace menos disponibles (Ostlund, 2007). Incluso si los fitoesteroides están en complejos con lecitina, que los hace más biodisponibles, es probable que el hígado de la gallina discrimine entre colesterol y otro tipo de esteroides, regresando al lumen intestinal todo aquello que no sean colesterol a través de sales biliares (Igel *et al.*, 2003). Sin embargo, Carrillo *et al.* (2012) lograron disminuir hasta en 26% la concentración total de colesterol en huevo utilizando 6% de *Sargassum spp.* en el alimento para gallinas ponedoras; esta disminución en colesterol la atribuyen a alguno de los factores que a continuación se enumeran: 1) a la presencia de ciertos fitoesteroides específicos, que interfieren con la síntesis endógena de colesterol o compiten con los sitios de absorción de este (Nishide and Uchida, 2003); 2) a que los polisacáridos (*i. e.* alginatos) aumentan la viscosidad en el intestino, que a su

vez disminuye la velocidad de paso del bolo alimenticio; además, se forman coloides iónicos que retienen a colesterol, lo que pudiera interferir con su absorción (Panlasigui *et al.*, 2003); y 3) a que los PUFA n-3 provocan una estimulación de la síntesis de lipoproteínas de alta densidad (HDL), responsables de transportar el colesterol de los tejidos y órganos al hígado para ser metabolizado y eliminado (Welch y Borlak, 2008).

Para aves en confinamiento es común que aproximadamente el 90% de los carotenoides en yema sean zeaxantina-luteína (Van Ruth *et al.*, 2011), dada la dieta a base de granos, principalmente maíz. Por otro lado, en animales silvestres o bajo condiciones de pastoreo libre la gama de carotenoides tiende a ser más amplia, como lo han reportado Sinanoglou *et al.* (2011) para varias especies de aves como avestruz, pavo, perdiz, pato y ganso, en donde encontró una variedad de 6 carotenoides: zeaxantina, luteína, neoluteína, cantaxantina, criptoxantina y β -caroteno, con diferentes concentraciones para cada especie. Más recientemente, el uso de algas y microalgas marinas ha logrado un doble beneficio, el aumento de los HUFA n-3 y la acumulación de carotenoides en la yema, lo cual hace al producto atractivo para consumo y le brinda mayor estabilidad oxidativa (Carrillo *et al.*, 2008; Rizzi *et al.* 2009; Bruneel *et al.*, 2013). Con el uso de harinas de hacha y calamar, así como con las cabezas de camarón (pero no con macarela) se logró enriquecer el huevo con astaxantina, lo que es valioso ya que a pesar de estar en bajas concentraciones, este carotenoide es un poderoso antioxidante, hasta 10 veces más potente que la zeaxantina, luteína y β -caroteno (Miki, 1991). La presencia de un antioxidante tan potente como la astaxantina, y el hecho de que los lípidos están encapsulados dentro de las células, aumenta la estabilidad oxidativa de los lípidos en el huevo, lo que a su vez mejora las características sensoriales y la coloración en yema, aunque esto último depende de la preferencia del consumidor, ya que se sabe que en los países de norte de Europa hay preferencia por huevos con yema más pálidas, mientras que en el sur las yemas de color rojizo son más aceptadas (Fraeye *et al.*, 2012). Carranco *et al.* (2003) lograron aumentar la pigmentación de la yema de huevo de un valor de 4 hasta 7 (abanico de colores) usando harina de

cabezas de camarón al 20% en el alimento, ellos atribuyen esto al contenido de astaxantina en la harina, ya que este es uno de los pigmentos con mayor afinidad por la yema de huevo (Belyavin y Marangos, 1989). Aun así, sus resultados están por debajo de lo encontrado aquí, en donde el valor aumentó de 4 hasta 13, lo cual pudiera deberse a que las harinas del trabajo de Carranco *et al.* (2003) fueron elaboradas con cabezas de camarón cultivado (no especificada), en comparación a cabezas de organismo silvestres aquí utilizadas.

Los otros parámetros sensoriales, como color, olor, sabor y consistencia de huevos cocidos no fueron afectados significativamente por la inclusión de subproductos marinos en el alimento para gallinas. En contraste, González-Esquerri y Leeson encontraron que la adición de aceite de arenque en 2% (regular) y 4% (desodorizada) durante 55 semanas en el alimento de gallinas ponedoras afectaba de manera negativa el olor y sabor, además de dejar un regusto (aftertaste) con sabores desagradables, en comparación a huevos de un alimento sin aceite de pescado. Algo similar ocurrió cuando se adicionó de 1 a 5% de grasa de foca durante 9 semanas en el alimento de gallinas; la mitad de los panelistas descubrieron diferencias entre los huevos del tratamiento control y aquellos del 5%, menores niveles de inclusión fueron menos detectados (Schreiner *et al.*, 2004). Un regusto podría deberse a ácidos grasos volátiles de cadena corta, producidos por oxidación de HUFA, y más considerando que ni el aceite de pescado ni el de foca son ricos en pigmentos. El que no se haya observado un efecto aquí podría indicar que la harina no contenía este tipo de moléculas oxidadas. El uso de aditivos de origen vegetal, como aceite de linaza (1.5%) o/y fructo-oligosacáridos (1.5%) durante 4 semanas, no causó ningún efecto sobre las características sensoriales (Yi *et al.*, 2014), posiblemente porque los PUFA de origen vegetal son más estables en sí, y contienen pigmentos que limitan la oxidación. En contraste, con las harinas de subproductos marinos fue posible mejorar la calidad del huevo en términos de composición de HUFA n-3 y carotenoides, sin disminuir las características que determinan la aceptación de este producto.

9. CONCLUSIONES

- Los procesos de secado (sin cocción) y de cocción durante la fabricación de las harinas de macarela y subproductos marinos, tuvieron diferentes efectos en función de la materia prima empleada.
- La cocción produjo reducción de diversos nutrientes, tales como la proteína, los lípidos totales y los HUFA, probablemente hidrolizándolos y lixiviándolos al caldo de cocción, mientras que el secado sin cocción preserva más los nutrientes presentes en las materias primas, excepto en el calamar, donde produjo pérdida de proteína y DHA.
- La inclusión de harinas de subproductos marinos cocidos en el alimento de camarón, como sustitutos de la harina de sardina, aumenta el consumo de alimento y el crecimiento, mientras que disminuye el FCA, en comparación con el alimento Control y los alimentos que contienen harinas de subproductos secados.
- La sustitución de la harina de sardina con harinas de vísceras de hacha y calamar cocidas en el alimento aumenta el contenido de HUFA en el músculo de camarón en mayor medida que con la inclusión de harinas secadas.
- La inclusión de las harinas de subproductos marinos en el alimento para gallina permite, en la mayoría de los casos, obtener parámetros productivos iguales o mayores a los del alimento Control, yemas de huevo enriquecidas en HUFA n-3, con mayores relaciones n-6:n-3, así como mayor acumulación de astaxantina y pigmentación en yema, sin afectar las características sensoriales del huevo cocido.

10. LITERATURA CITADA

- Ackman R. 1976. Fish oil composition. In: Objective Methods for Food Evaluation. Washington, DC, National Academy of Science, pp. 103–132.
- Acosta-Ruiz, J., J. Paniagua-Michel, J. Olmos-Soto, E. Paredes-Escalona E. 2011. Primer registro de la utilización de harinas de *Salicornia bigelovii* y *Scomber japonicus* en dietas prácticas para el cultivo súper-intensivo de camarón *Litopenaeus stylirostris*. Lat Am J Aquat Res, 39:409–415.
- Aidos, I., S. Lourenclo, A. Padt, J. Luten, R. Boom. 2002. Stability of crude herring oil produced from fresh byproducts: influence of temperature during storage. J Food Sci, 67:3314–3320.
- Akdemir, F., C. Orhan, N. Sahin, K. Sahin, A. Hayirli. 2012. Tomato powder in laying hen diets: effects on concentrations of yolk carotenoids and lipid peroxidation. Brit Poultry Sci, 53:675–680.
- Akiba, Y., K. Sato, K. Takahashi, Y. Takahashi, A. Furuki, S. Konashi, H. Nagao. 2000. Pigmentation of egg yolk with yeast *Phaffia rhodozyma* containing high concentration of astaxanthin in laying hens fed on a low-carotenoid diet. Jap Poultry Sci, 37:77–85.
- Akiyama, D.M., S. Coelho, A. Lawrence, E. Robinson. 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* BOONE. Nippon Suisan Gakkaishi, 55:91–98.
- Akiyama D.M., W. Dominy, A. Lawrence. 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry revised. En: Akiyama DM, Tan RK. (Eds.), Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Thailand and Indonesia. American Soybean Association, Singapore, pp. 80-90. Sept. 19-25.
- Alajaji, S.A., T.A. El-Adawy. 2006. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. J Food Compos Anal, 19:806–812.
- Almansa, E., P. Domingues, A. Sykes, N. Tejera, A. Lorenzo, J. Andrade. 2006. The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). Aquaculture, 256:403–413.
- Amaya, E.A., D. Davis, D. Rouse. 2007. Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. Aquaculture, 262: 393–401.
- Anderson, K.E. 2013. Comparison of fatty acid, cholesterol, vitamin A and E composition, and trans fats in eggs from brown and white egg strains that were molted or nonmolted. Poultry Sci, 92:3259–3265.
- Andrade, R.D., M. Chávez, V. Naar. 2007. Evaluation of the cooking and drying procedures to obtain crop shrimp (*Penaeus sp*) heads flour. DYNA, 74:181–186.
- Animal Feed Resources Information System. 2004. Fish meal, fishmeal, tunafish, whitefish meal, anchovy meal, herring meal, menhaden meal, salmon meal. <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAP/FGR/AFRIS/DATA/332.htm>
- AOAC. 2005. Official methods of analysis of AOAC International. Amino acids in feeds. 18th.ed. W. Horwitz and G. Latimer. Association of Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, Virginia, USA. 8-24 pp.
- ApSimon, J.W., D. Burnell. 1980. Sterols from the squid, *Illex illecebrosus* (mollusca, cephalopoda). Compe Biochem Phys B, 65:567–570.

- Arellano-Martinez, M., B. Ceballos-Vazquez, M. Villalejo-Fuerte, F. Garcia-Dominguez, J. Elorduy-Garay, A. Esliman-Salgado, I. Racotta. 2004. Reproduction of the lion's paw scallop *Nodipecten subnodosus* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pectinidae) from Laguna Ojo de Liebre, BCS, México. *J Shellfish Res*, 23:723–730.
- Arjona, O., A. Millan, AM. Ibarra, E. Palacios. 2008. Muscle and roe lipid composition in diploid and triploid scallops. *J Food Lipids*, 15:407–419.
- Arredondo-Figueroa, J.L., R. Pedro-Islas, J.T. Ponce-Palafox, E.J. Vernon-Carter EJ. 2003. Pigmentation of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) with esterified and saponified carotenoids from red chili (*Capsicum annuum*) in comparison to astaxanthin. *Rev Mex Ing Quim*, 2:101–108.
- Arvanitoyannis, I.S., A. Kassaveti. 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses. *Int J Food Sci Tech*, 43:726–745.
- Astiasaran, I., J. Martínez. 2003. Huevos. En: Alimentos. Composición y Propiedades. Mc Graw Hill-Interamericana de España.
- Aubourg, S.P. 2001. Review: Loss of quality during the manufacture of canned fish products. *Food Sci Technol Int*, 7: 199–215.
- AWARENET. 2004. Handbook for the prevention and minimization of waste and valorization of by-products in European agro-food industries. Agro-food waste minimization and reduction network (AWARENET). Grow Programme, European Commission, 1-7.
- Aymond, W.M., M.E. Van Elswyk. 1995. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty-acids in response to whole and ground flaxseed. *Poultry Sci*, 74:1388–1394.
- Bae, J.H., S.H. Yoon, S.Y. Lim. 2011. Heavy metal contents and chemical compositions of atlantic (*Scomber scombrus*), blue (*Scomber australasicus*), and chub (*Scomber japonicus*) mackerel muscles. *Food Sci Biotechnol*, 20:709–714.
- Banco Mundial. 2012. Estadísticas de producción agrícola. Vinculo en línea: <http://www.indexmundi.com/es/precios-de-mercado/?mercancia=harina-de-pescado>
- Bartov, I., S. Bornstein, P. Budowski. 1971. Variability of cholesterol concentration in plasma and egg yolks of hens and evaluation of the effect of some dietary oils. *Poultry Sci*, 50:1357–1364.
- Baucells, M.D., N. Crespo, A. Barroeta, S. López-Ferrer, M.A. Grashorn. 2000. Incorporation of different polyunsaturated fatty acids into eggs. *Poultry Sci*, 79:51–59.
- Behrens, P.W., D.J Kyle. 1996. Microalgae as a source of fatty acids. *J Food Lipids*, 3:259–272.
- Bellagamba, F., F. Caprino, T. Mentasti, M. Vasconi, M. Moretti VM. 2015. The impact of processing on amino acid racemization and protein quality in processed animal proteins of poultry origin. *Ital J Anim Sci*. URL <http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/view/ijas.2015.3770/2873>
- Belyavin, C. T. Marangos. 1989. The value of natural products for yolk pigmentation. *Int Mag Poultry*, 4:11–13.
- Benjumea, C.M.C., J.E. Gómez. 2010. Evaluación del bienestar animal y comparación de los parámetros productivos en gallinas ponedoras de la línea Hy-line Brown en tres modelos de producción: piso, jaula y pastoreo. *Rev Cien Anim*, 3:9-22.
- Beyer, R.S., L.S. Jensen. 1993. Tissue and egg cholesterol concentrations on laying hens fed high-protein barley flour-tocotrienol, and cholesterol. *Poultry Sci*, 72:1339–1348.
- Bilen, G. 2010. Effect of essential oils treatment on the frozen storage stability of chub mackerel fillets. *J Verbr Lebensm*, 5:101–110.
- Binsan, W., S. Benjakul, W. Visessanguan, S. Roytrakul, N. Faithong, M. Tanaka, H. Kishimura. 2008. Composition, antioxidative and oxidative stability of mungoong, a

- shrimp extract paste, from the cephalothorax of white shrimp. *J Food Lipids*, 15: 97–118.
- Blanchier, B., E. Boucaud-Camou. 1984. Lipids in the digestive gland and the gonad of immature and mature *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda). *Mar Biol*, 80:39–43.
- Bonn, G.D, D.D. Elmhorn, G.G. Ludwigshafen, H.H. Celle, K.K. Cuxhaven, H.T. Hanau. 1991. Los aminoácidos en la nutrición animal. DEGUSSA. Frankfurt, Alemania.
- Boonyaratpalin, M., N. Unprasert. 1989. Effect of pigments from different sources on color changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 79:375–380.
- Boreau, B.P., D.L. Meeker. 2011. Terrestrial animal fats. En: Turchini, G., Wing-Keong, N., Tocher, D (EdS). *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*, CRC Press, Boca raton, Florida, EU.
- Bragagnolo, N., D.B. Rodriguez-Amaya. 2001. Total Lipid, Cholesterol, and Fatty Acids of Farmed Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and Wild Marine Shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schimitti*, *Xiphopenaeus kroyeri*). *J Food Compos Anal*, 14:359–369.
- Brambilla, F., A. Forchino, M. Antonini, S. Rimoldi, G. Terova, M. Saroglia. 2010. Effect of dietary Astaxanthin sources supplementation on muscle pigmentation and lipid peroxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ital J Anim Sci*, 8:845–847.
- Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J*, 9:1551–1558.
- Bueno-Solano, C., J. López-Cervantes, O.N. Campas-Baypoli, R. Lauterio-García, N.P. Adan-Bante, D.I. Sánchez-Machado. 2009. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chem*, 112:671–675.
- Bureau, D.P. K. Hua. 2006. Letter to the editor of *Aquaculture*. *Aquaculture*, 252, 103–105.
- Cabanillas-Beltran, H., J.T. Ponce-Palafox, J.L. Arredondo-Figueroa, H.M. Esparza-Leal, M. García-Ulloa. 2013. Digestibility of different thermal processed grain of legumes, *Rynchosia minima* and *Cajanus cajan*, in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Asian J Animal Scie*, 7:36–46.
- Cachaldora, P., P. Garia-Rebollar, C. Alvarez, J. Mendez, J.C. De Blas. 2008. Double enrichment of chicken eggs with conjugated linoleic acid and n-3 fatty acids through dietary fat supplementation. *Anim Feed Sci Technol*, 144:315–326.
- Cachaldora, P., P. Garcia-Rebollar, C. Alvarez, J.C. De Blas, J. Mendez. 2008. Effect of type and level of basal fat and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids deposition efficiency in laying hens. *Anim Feed Sci Tech*, 141:104–114.
- Caers, M., P. Coutteau, K. Cure, V. Morales, G. Gajardo, P. Sorgeloos P. 1999. The Chilean scallop (*Argopecten purpuratus*, Lamarck, 1819): I. fatty acid composition and lipid content of six organs. *Comp Biochem Physiol B*, 123:89–96.
- Cantú-Medellín, N., N.O. Olguín-Monroy, L.C. Méndez-Rodríguez, T. Zenteno-Savín. 2009. Antioxidant enzymes and heavy metal levels in tissues of the black chocolate clam *Megapitaria squalida* in Bahía de La Paz, Mexico. *Arch Environ Con Tox*, 56:60–66.
- Cao, W., C. Zhang, P. Hong, H. Ji, J. Hao, J. Zhang. 2009. Autolysis of shrimp head by gradual temperature and nutritional quality of the resulting hydrolysate. *LWT-Food Sci Technol*, 42:244–249.
- Carranco Jáuregui, M.E., M.D.L.C. Calvo Carrillo, L.G. Arellano Martínez, F. Pérez Gil, E. Avila González. 2003. Inclusión de la harina de cabezas de camarón *Penaeus sp* en raciones para gallinas ponedoras. *Interciencia*, 28:328–333.
- Carranco, M.E., C.C. Calvo, D.S. Carrillo, C.R. Ramírez, B.E. Morales, G.L. Sanginés, M.B. Fuente, G.E. Ávila, R.F. Pérez-Gil. 2011. Harina de crustáceos en raciones de gallinas

- ponedoras. Efecto en las variables productivas y evaluación sensorial de huevos almacenados en diferentes condiciones. *Rev Cub Cie Agríc*, 45:171–175
- Carranco-Jáuregui, M.E., L. Sanginés-García, E. Morales-Barrera, S. Carrillo-Domínguez, E. Ávila-González, B. Fuente-Martínez, F.P. Romo FP. 2006. Shrimp head meal in laying hen rations and its effects on fresh and stored egg quality. *Interciencia*, 31: 822.
- Carrillo, S., E. Lopez, M.M. Casas, E. Avila, R.M. Castillo, M.E. Carranco, C. Calvo, F. Pérez-Gil F. 2008. Potential use of seaweeds in the laying hen ration to improve the quality of n-3 fatty acid enriched eggs. *J Appl Phycol*, 20, 721–728.
- Carrillo, S., F. Pérez-Gil, E. Avila, M.E. Carranco, R.M. Castillo, M. Casas, J. Lecumberri. 1998. Cholesterol content in eggs from laying hens fed *Sargassum sinicola* and *Ulva lactuca* seaweeds. XV International Seaweed Symposium. 12-17 Apr. Cebú City, Philippines. Pag. 65 (Abstract).
- Carrillo-Domínguez, S., J.M. Carranco, D.R.M. Castillo, G.M.I. Castro, G.E. Ávila, R.F. Pérez-Gil. 2005. Colesterol and n-3 and n-6 Fatty Acid Content in Eggs from Laying Hens Fed with Red Crac Meal (*Pleuroncodes planipes*). *Poult Sci*, 84:167
- Carver, L.A., D.M. Akiyama, W.G. Dominy. 1989. Processing of wet shrimp heads and squid viscera with soy meal by a dry extrusion process. En: Proceedings of the World Congress on Vegetable Protein Utilization in Human Foods and Animal Feedstuffs (pp. 167–170). Amer Oil Chemists Society.
- Casas-Valdez, M., G. Portillo-Clark, N. Aguila-Ramírez, S. Rodríguez-Astudillo, I. Sánchez-Rodríguez, S. Carrillo-Domínguez. 2006. Efecto del alga marina *Sargassum* spp. sobre las variables productivas y la concentración de colesterol en el camarón café, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900). *Rev Biol Mar Ocean*, 41:97-105.
- Castille, F., A. Lawrence, P. Buisman, R. Drost. 2004. Effects of sterol supplements (Cholesterol FG, Cholesterol SF, and Sterols M1M) on growth and survival of the shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone. En: Cruz Suárez LE, Ricque Marie D, Nieto López MG, Villarreal D, Scholz U y González M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.
- Castillo-Dominguez, R.M. 2004. Efecto del aceite de sardina sobre el contenido de colesterol y ácidos grasos w-3 y w-6 en huevo de gallina. Universidad de Colima. Tesis de Maestría.
- Castro, J.J. 1993. Feeding ecology of chub mackerel *Scomber japonicus* in the Canary Islands area. *S Afr J Mar Sci*, 13:323–328.
- Cavalheiro, J.M.O., E.O. de Souza, P.S. Bora. 2007. Utilization of shrimp industry waste in the formulation of tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus) feed. *Bioresource Technol*, 98:602–606.
- Celik, M. 2008. Seasonal changes in the proximate chemical compositions and fatty acids of chub mackerel (*Scomber japonicus*) and horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the north eastern Mediterranean Sea. *Int J Food Sci Tech.*, 43:933–938.
- Chandge, M.S., R. Paul Raj. 1990. Nutritive value of natural lipid sources for Indian white prawn, *Penaeus indicus* H. Milne Edwards. En: Proceedings of Second Indian Fisheries Forum, 27-31 May 1990. Joseph MM. (Ed.) pp. 1–21. Asian Fisheries Society, Indian Branch, Mangalore, India.
- Chandumpai, A., W. Dall, D.M. Smith. 1991. Lipid-class composition of organs and tissues of the tiger prawn *Panaeus esculentus* during the moulting cycle and during starvation. *Mar Biol*, 108:235–245.
- Chantachum, S., S. Benjakul, N. Sriwirat N. 2000. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. *Food Chem*, 69:289-294.

- Cheng, Z.J., R.W. Hardy. 2004. Protein and lipid sources affect cholesterol concentrations of juvenile Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *J Anim Sci* 82: 1136-1145.
- Cheng, Z.J., K.C. Behnke, W.G. Dominy WG. 2002. Effects of poultry by-product meal as a substitute for fish meal in diets on growth and body composition of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J Appl Aquac*, 12:71-83.
- Cho, C.Y., S. Slinger. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. En: Halver J.E., Tiews, K. (Eds.). *Finfish Nutrition and Technology*, Vol. II. Heenemann GmbH, Berlin, Germany. pp. 239-247.
- Cho, J.H., Z.F. Zhang, I.H. Kim. 2012. Effects of Canthaxanthin on Egg Production, Egg Quality, and Egg Yolk Color in Laying Hens. *J Agr Sci*, 5:269-274.
- Cho, S.Y., D.S. Joo, H.G. Choi, E. Nara, K.Miyashita. 2001. Oxidative stability of lipids from squid tissues. *Fisheries Sci*, 67:738-743.
- Choubert, G., M. Baccaudaud. 2010. Effect of moist or dry heat cooking procedures on carotenoid retention and colour of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed astaxanthin or canthaxanthin. *Food Chem*, 119:265-269.
- Civera, R., J.C. Guillaume. 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralization of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, 77:145-156.
- Civera, R., H. Villareal, E. Goytortúa, S. Rocha, F. Vega, H. Nolasco, H. Pastén, T. Camarillo. 1996. Uso de la langostilla (*Pleuroncodes planipes*) como fuente de proteína en dietas experimentales para camarón. *Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Capítulo V. Fuentes alternativas de proteína. *Avances en Nutrición Acuicola*, 3:325-348.
- Clarke, A. 1980. The biochemical composition of krill, *Euphausia superba* Dana, from South Georgia. *J Exp Mar Biol Ecol*, 43:221-236.
- Cocolezzi, H., E. Almanza, O. Agustín, E. Nava, E. Cassellis. 2009. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío*, 3: 57-60.
- Codex Alimentarius Commission, 2001. *Fats, Oils and Related Products*. Rome, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organization.
- Colwell, R. 2004. Infectious disease and environmental: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Int Microbiol*, 7:285-289.
- Combs, G.F., N.V. Helbacka. 1960. Studies with laying hens. 1. Effect of dietary fat, protein levels and other variables in practical rations. *Poultry Sci* 39: 271-279.
- CONAPESCA. Información estadística por especie y entidad. URL http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta_especifica_por_produccion. Última actualización: 12 de mayo de 2016.
- Coorey, R., A. Novinda, H. Williams, V. Jayasena. 2015. Omega-3 Fatty Acid Profile of Eggs from Laying Hens Fed Diets Supplemented with Chia, Fish Oil, and Flaxseed. *J Food Sci*, 80:180-187.
- Córdova Murueta, J.H., F. García Carreño. 2001. The effect on growth and protein digestibility of shrimp *Penaeus stylirostris* fed with feeds supplemented with squid (*Dosidicus gigas*) meal dried by two different processes. *J Aquat Food Prod T*, 10:1-13.
- Córdova Murueta, J.H., M. Navarrete del Toro, F. García Carreño. 2007. Concentrates of fish protein from bycatch species produced by various drying processes. *Food Chem*, 100:705-711.

- Cornejo, S., H. Hidalgo, J. Araya, J. Pokniak. 2008. Suplementación de dietas de gallinas de postura comercial con aceites de pescado de diferentes grados de refinamiento. Efectos productivos en las aves y en la calidad organoléptica de los huevos. *Arch Med Vet*, 40:45
- Coutteau, P., I. Geurden, M.R. Camara, P. Bergot, P. Sorgeloos P. 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture*, 155:149–164.
- Coutteau, P., I. Geurden, M.R. Camara, P. Bergot, P. Sorgeloos. 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture*, 155:149–164.
- Cranford, P.J., C.W. Emerson, B.T. Hargrave, T.G. Milligan. 1998. In situ feeding and absorption responses of sea scallops *Placopecten magellanicus* (Gmelin) to storm-induced changes in the quantity and composition of the seston. *J Exp Mar Biol Ecol*, 219:45–70.
- Cruz-Ricque, L.E., J. Guillaume, G. Cuzon. 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. *J World Aquacult Soc*, 18:209–217.
- Cruz-Suárez, L.E., M. Nieto-López, C. Guajardo-Barbosa, M. Tapia-Salazar, U. Scholz, D. Ricque-Marie. 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*, 272, 466-476.
- Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, I.M. McCallum, D. Hickling. 2001. Assessment of differently processed feed pea (*Pisum sativum*) meals and canola meal (*Brassica sp.*) in diets for blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*). *Aquaculture*, 196:87–104.
- Cruz-Suárez, L.E., M. Tapia-Salazar, D. Villarreal-Cavazos, J. Beltran-Rocha, M.G. Nieto-López, A. Lemme, D. Ricque-Marie. 2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, 292:87–94.
- Czeczuga, B., B. Klyszejko, E. Czeczuga-Semieniuk. 2000. The carotenoid content in certain fish species from the fisheries of New Zealand. *Bull Sea Fisher Inst*, 149:35–42.
- D'Abramo, L.R. 1989. Lipid requirements of shrimp. *Advances in Tropical Aquaculture*. AQUACOPIFREMER, Tahiti, pp. 271–285.
- Davis, D.A., C.R. Arnold. 2000. Replacement of fishmeal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 185:291-298.
- De Koning, A.J., A.A. Evans, C. Heydenrych, D.V. Purcell, J. Christopher, J.P. Wessels. 1985. A critical investigation of a number of different methods of lipid determination in fish meal, with particular emphasis on corrections required in these determinations. *J Sci Food Agric*, 36:177–185.
- De Lurdes, M., E. Dapkevičius, I. Batista, N.R. Nout, F.M. Rombouts, J.H. Houben JH. 1998. Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods. *Food Chem*, 63:97–102.
- De Moreno, J., V. Moreno, L. Ricci, M. Roldán, M. Gerpe M. 1998. Variations in the biochemical composition of the squid *Illex argentinus* from the South Atlantic Ocean. *Comp Biochem Phys B*, 119:631–637.
- De Silva, S., D. Francis, A. Tacon. 2011. Fish Oils in Aquaculture. En: Turchini, G., Wing-Keong, N., Tocher, D. (Ed). *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*, CRC Press, Boca Raton, Florida, EU.
- Decision News Media, 2006. Global Fish Oil Production Down in 2005. FOODproducciondaily.com, Report update March 15, 2006.

(<http://www.foodproductiondaily.com/Supply-Chain/Global-fish-oil-production-down-in-2005>).

- Díaz-Rojas, E.I., W.M. Argüelles-Monal, I. Higuera-Ciapara, J. Hernández, J. Lizardi-Mendoza, F.M. Goycoolea. 2006. Determination of chitin and protein contents during the isolation of chitin from shrimp waste. *Macromol Biosci*, 6:340–347.
- Domiszewski, Z., G. Bienkiewicz, D. Plust D. 2011. Effects of different heat treatments on lipid quality of striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*). *Acta Scie Technol*, 10:359-373.
- Drazen, J.C., C.F. Phleger, M.A. Guest, P.D. Nichols. 2009. Lipid composition and diet inferences in abyssal macrourids of the eastern North Pacific. *Mar Ecol Prog Ser*, 387:1-14
- Dumay, J., C. Donnay-Moreno, G. Barnathan, P. Jaouen, J.P. Berge. 2006. Improvement of lipid and phospholipid recoveries from sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using industrial proteases. *Process Biochem*, 41:2327–2332.
- Dunstan, G.A., J.K. Volkman, S.M. Barrett, C.D. Garland. 1993. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *J Appl Phycol*, 5:71-83.
- Durand, S.V., K.F.J. Tang, D.V. Lightner. 2000. Frozen commodity shrimp: potential avenue for introduction of white spot syndrome virus and yellow head virus. *J Aquat Anim Health*, 12:128-135.
- Ehteshami, F., A. Christianus, H. Rameshi, S.A. Harmin, C.R. Saad CR. 2011. Proximate and fatty acid composition of the gonads of wild versus hatchery-conditioned *Pinctada margaritifera* broodstock. *Aquacult Nutr*, 17:675–682.
- Elkin, R.G., E.S. Lorenz. 2009. Feeding laying hens a bioavailable soy sterol mixture fails to enrich their eggs with phytosterols or elicit egg yolk compositional changes. *Poultry Sci*, 88:152–158.
- Elkin, R.G. 2006. Reducing shell egg cholesterol content. I. Overview, genetic approaches, and nutritional strategies. *World Poultry Sci J*, 62:665-687.
- Elkin, R.G., J.C. Rogler. 1989. Effect of lovostatin on laying hen performance and egg cholesterol content. *Poultry Sci* 68:49-56.
- Escarria, S., C. Reyes, D. Rohan D. 1989. Estudio bioquímico de la escalopa *Argopecten circularis*. *Ciencias Marinas*, 15:63-72.
- Eymard, S., E. Carcouët, M.J. Rochet, J. Dumay, C. Chopin, C. Genot. 2005. Development of lipid oxidation during manufacturing of horse mackerel surimi. *J Sci Food Agric*, 85:1750–1756.
- Fanimo, A.O., B.O. Oduguwa, O.O. Oduguwa, O.Y. Ajasa, O. Jegede. 2004. Valor nutritivo de harina de gambas para cerdos en crecimiento. *Arch Zootec*, 53:77-85.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1986. *The Production of Fish Meal and Oil*. FAO, Rome (Italy).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2008. *El estado actual de la pesca y la acuicultura*. FAO Fisheries Department, Roma, 196 pp.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2014. *El estado actual de la pesca y la acuicultura*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2009. *State of World Fisheries and Aquaculture 2008* (Food and Agriculture Organization, Rome).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 1997. *La pesca y la acuicultura en la América Latina y el Caribe: situación y perspectivas en 1996*. Circular de pesca (921). Roma. 60 p

- Farías-Molina, A. 2001. Nutrición en moluscos Pectínidos. In MAEDA-MARTINZ, A.N. Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica. Ciencia y Acuicultura. México: Ed. Limusa, p. 89-104.
- Feldstein, A.E., N.W. Werneburg, A. Canbay, M.E. Guicciardi, S.F. Bronk, R. Rydzewski, L.J. Burgart, G.J. Gores. 2004. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology*, 40:185–194.
- Feng, Y.W., L.Z. Ma, Y.C. Du, S.H. Fan, R.T. Dai. 2012. Chemical Composition Analysis of Three Commercially Important Fish Species (Sardine, Anchovy and Mackerel). *Adv Mat Res*, 554:900-904.
- Fenucci, J.L. 2007. Harina de pescado. Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos, 18-40.
- Ferraro, V., I.B. Cruz, R.F. Jorge, F.X. Malcata, M.E. Pintado, P.M. Castro. 2010. Valorization of natural extracts from marine source focused on marine by-products: a review. *Food Res Int*, 43:2221–2233.
- Ferrier, L.K., L.J. Caston, S. Leeson, J. Squires, B.J. Weaver, B.J. Holub. 1995. Alpha-linolenic acid-and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: Influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*, 62:81–86.
- Folch, J., M. Lees, G.H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226:497–509.
- Forster, I.P., W.G. Dominy. 2006. Efficacy of three methionine sources in diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J World Aquacult Soc*, 37:474-480.
- Forster, I.P., W. Dominy, A.G. Tacon. 2002. The use of concentrates and other soy products in shrimp feeds. *Avances en Nutricion Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 3-6 de Septiembre de 2002. Cancun, Quintana Roo, Mexico.*
- Foss, P., T. Storebakken, K. Schiedt, S. Liaaen-Jensen, E. Austreng, K. Streiff. 1984. Carotenoids in diets for salmonids: I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture*, 41:213–226.
- Fox, J., G.D. Treece. 2001. Nutrición y manejo del alimento. Métodos para mejorar la camarónicultura en Centroamérica. MC, Haws y CE, Boyd (eds), 65–90.
- Fox, J.M., D.A. Davis, M. Wilson, A.L. Lawrence. 2006. Current status of amino acid requirement research with marine penaeid shrimp. En: Cruz-Suárez LE, RicqueMarie D, Tapia-Salazar M, Neito-Lopez MG, Villarreal-Cavazos DA, Puello-Cruz AC, Garcia-Ortega A. (Eds.), *Avances en Nutrición Acuicola*, vol. VIII, pp. 182–196.
- Fraeye, I., C. Bruneel, C. Lemahieu, J. Buyse, K. Muylaert, I. Foubert. 2012. Dietary enrichment of eggs with omega-3 fatty acids: A review. *Food Res Int*, 48:961–969.
- Franco-Zavaleta, M.E. 2010. Extracción de astaxantina a partir de residuos de camarón ensilados por métodos ácido y bacteriano. Universidad Autónoma Metropolitana. Tesis Doctoral.
- Friedman, M. 2010. Origin, Microbiology, Nutrition, and Pharmacology of D-Amino Acids. *Chem Biodivers*, 7:1491–1530.
- Fu, X.Y., C.H. Xue, B.C. Miao, Z.J. Li, Y.Q. Zhang, Q. Wang. 2007. Effect of processing steps on the physico-chemical properties of dried-seasoned squid. *Food Chem*, 103:287–294.

- Furukawa, H., H. Tsukahara. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromium oxide as an index substance in the study of digestibility of fish fed. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 32, 502–506.
- Galicia-González, A., E. Goytortúa-Bores, F.J. Moyano-López, L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, E. Palacios, R. Civera-Cerecedo. 2010. Chemical Composition and Digestibility of Three Mexican Safflower Meals Used as Ingredients in Diets for Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J World Aquacult Soc*, 41:191–202.
- García, C., C. Albalá. 1998. Composición lipídica de huevos de gallina alimentadas con productos grasos y proteicos marinos. *Arch Latinoam Nutr*, 1:71-76.
- García-Arias, M., F.J. Sánchez-Muniz, A.M. Castrillón, M. Pilar-Navarro. 1994. White tuna canning, total fat, and fatty acid changes during processing and storage. *J Food Compos Anal*, 7:119-130.
- García-Galano, T., H. Villarreal-Colmenares, J.L. Fenucci. 2007. Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos. Subprograma II “Acuicultura” red temática II.C Proyecto II-8. Pp 264. Mar del Plata, Argentina. ISBN: 978- 987-1371-02-0.
- Gbogouri, G.A., M. Linder, J. Fanni, M. Parmentier. 2004. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *J Food Sci*, 69:615–622.
- Gillingham, L., L. Caston, S. Leeson, K. Hourtovenko, B. Holub. 2005. The effects of consuming docosahexaenoic acid (DHA)-enriched eggs on serum lipids and fatty acid compositions in statin-treated hypercholesterolemic male patients. *Food Res Int*, 38:1117-1123.
- Giménez, B., J. Gómez-Estaca, A. Alemán, M.C. Gómez-Guillén, M.P. Montero. 2009. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocol*, 23:1322-1327.
- Girotti, A.W. 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effect or action in biological systems. *J Lipid Res*, 39:1529–1542.
- Gisbert, E., L. Villeneuve, J.L. Zambonino-Infante, P. Quazuguel, C.L. Cahu. 2005. Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long-chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larval development. *Lipids*, 40:609–618.
- Glencross, B.D., D.M. Smith, M.R. Thomas, K.C. Williams. 2002. Optimising the essential fatty acids in the diet for weight gain of the prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 204:85–99.
- Gocer, M., M. Yanar, M. Kumlu, Y. Yanar. 2006. The effects of red pepper, marigold flower, and synthetic astaxanthin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turk J Vet Anim Sci*, 30:359–365.
- Gong, H., A.L. Lawrence, D.H. Jiang, F.L. Castille, D.M. Gatlin. 2000. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*: I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. *Aquaculture* 190:305–324.
- Gonzalez-Esquerria, R., S. Leeson. 2000. Effect of Feeding Hens Regular or Deodorized Menhaden Oil on Production Parameters, Yolk Fatty Acid Profile, and Sensory Quality of Eggs. *Poultry Sci*, 79:1597–1602.
- González-Esquerria, R., S. Lesson. 2001. Alternatives for enrichment of eggs chicken meat with omega-3 fatty acids. *Can J Anim Sci*, 81:295–305.
- González-Félix, M.L., F.S.D. da Silva, D.A. Davis, T.M. Samocha, T.C. Morris, J.S. Wilkenfeld, M. Perez-Velazquez. 2010. Replacement of fish oil in plant based diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 309:152–158.

- González-Félix, M.L., D.M. Gatlin, A.L. Lawrence, M. Perez-Velazquez. 2002b. Effect of various dietary lipid levels on quantitative essential fatty acid requirements of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J World Aquacult Soc*, 33:330–340.
- González-Félix, M.L., D.M. Gatlin, A.L. Lawrence, M. Perez-Velazquez. 2002a. Effect of dietary phospholipid on essential fatty acid requirements and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*, 207:151–167.
- González-Félix, M.L., A.L. Lawrence, D.M. Gatlin, M. Perez-Velazquez M. 2002c. Growth, survival and fatty acid composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed different oils in the presence and absence of phospholipids. *Aquaculture*, 205:325–343.
- González-Félix M.L., A.L. Lawrence, D.M. Gatlin, M. Perez-Velazquez. 2003. Nutritional evaluation of fatty acids for the open thelycum shrimp, *Litopenaeus vannamei*: I. Effect of dietary linoleic and linolenic acids at different concentrations and ratios on juvenile shrimp growth, survival and fatty acid composition. *Aquacult Nutr*, 9:105–113.
- González-Salas, R., O. Romero-Cruz, M. Valdivié-Navarro, J.T. Ponce-Palafox. 2014. Los productos y subproductos vegetales, animales y agroindustriales: Una alternativa para la alimentación de la tilapia. *Revista Bio Ciencias*, 2: 240–251.
- Goytortúa-Bores, E., R. Civera-Cerecedo, S. Rocha-Meza, A. Green-Yee. 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. *Aquaculture*, 256:414–422
- Grobas, S., G.G. Mateos. 1996. Influencia de la nutrición sobre la composición nutricional del huevo. *Curso de especialización FEDNA*, 12, 219–244.
- Guadix, A., E.M. Guadix, M.P. Páez-Dueñas, P. González-Tello, F. Camacho. 2000. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, 41:79–89.
- Guéraud, F., M. Atalay, N. Bresgen, A. Cipak, P.M. Eckl, L. Huc, I. Jouanin, W. Siems, K. Uchida. 2010. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Res*, 44:1098–1124.
- Guerra, M., Y. Gonzales, L. Vega, R. Castelo, Z. Trujillo. 2011. Evaluación de los rendimientos del bonito (*Katsuwonus pelamis*) con dos métodos de cocción. *Rev Cub Investig Pesq*, 28:42–47.
- Guillaume, J., E. Cruz-Ricque, G. Cuzon, A. Van Wormhoudt, A. Revol. 1989. Growth Factors in Penaeid Shrimp Feeding. *Advances in Tropical Aquaculture. AQUACOPIFREMER Actes de Colloque 9. Feb 20–March 4, 1989. Tahiti*, pp. 327–338
- Gunasekera, R.M., K. Leelarasamee, S.S. De Silva. 2002. Lipid and fatty acid digestibility of three oil types in the Australian shortfin eel, *Anguilla australis*. *Aquaculture* 203:335–347.
- Haaland, H., E. Arnesen, L.R. Njaa. 1990. Amino acid composition of whole mackerel (*Scomber scombrus*) stored anaerobically at 20 C and at 2 C. *Int J Food Sci Tech*, 25:82–87.
- Hale, M.B., T. Brown. 1983. Fatty acids and lipid classes of three underutilized species and changes due to canning. *Mar Fish Rev*, 45:45–48.
- Hall, J.M., C.C. Parrish, R.J. Thompson R.J. 2002. Eicosapentaenoic acid regulates scallop (*Placopecten magellanicus*) membrane fluidity in response to cold. *Biol Bull*, 202:201–203.
- Hardy, R.W., A.G.J. Tacon. 2002. Fish meal production and sustainable supplies. In: Stickney, R.R., McVey, J.P. (Eds.), *Responsible Marine Aquaculture*. CABI Publishing, Oxon, pp. 311–325.

- Hardy, R.W., D.A. Higgs, S. Lall, A. Tacon. 2001. Alternative dietary protein and lipid sources for sustainable production of salmonids. *Fisken og Havet*, No.8, 53 pp. May 31, 2001: Institute of Marine Research, Bergen, Norway.
- Hardy, R.W. 1999. Alternate protein sources. *Feed Manag*, 50: 25–28.
- Harel, M., W. Koven, I. Lein, Y. Bar, P. Behrens, J. Stubblefield, Y. Zohar, A.R. Place. 2002. Advanced DHA, EPA and ARA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. *Aquaculture* 213: 347–362.
- Hargis, P.S., M.E. Van Elswyk, B.M. Hargis. 1991. Dietary Modification of yolk lipid with Menhaden oil. *Poultry Sci*, 70:874–883.
- Hargis, P.S. 1988. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl: a review. *World Poultry Sci J*, 44: 17–29.
- Hayashi, K., J.R. Bower. 2004. Lipid composition of the digestive gland, mantle and stomach fluid of the gonatid squid *Berryteuthis anonychus*. *J Oleo Sci*, 53:1–8.
- Hayashi, K., H. Kishimura. 2002. Amount and Composition of Diacyl Glyceryl Ethers in Various Tissue Lipids of the Deep-sea Squid *Berryteuthis magister*. *J Oleo Sci*, 51:523–529.
- Herber, S.M., M.E. Van Elswyk. 1996. Dietary marine algae promotes efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poultry Sci*, 75:1501–1507.
- Hernández, C., M.A. Olvera-Novoa, K. Aguilar-Vejar, B. González-Rodríguez, I. Abdo de la Parra. 2008. Partial replacement of fish meal by porcine meat meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 277, 244–250.
- Hernández, C., J. Sarmiento-Pardo, B. González-Rodríguez. 2004. Replacement of fish meal with co-extruded wet tuna viscera and corn meal in diets for white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Aquac Res*, 35, 1153–1157.
- Hertrampf, J.W., F. Piedad-Pascual. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers (ed.), Dordrecht, The Netherlands. 573 pp.
- Heu, M.S., J.S. Kim, F. Shahidi. 2003. Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chem*, 82:235–242.
- Huai, M.Y., Y.J. Liu, L.X. Tian, S.X. Deng, A.L. Xu, W. Gao, H.J. Yang. 2010. Effect of dietary protein reduction with synthetic amino acids supplementation on growth performance, digestibility, and body composition of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult Int*, 18:255–269.
- Hurtado, M.A., I.S. Racotta, O. Arjona, M. Hernández-Rodríguez, E. Goytortúa, R. Civera, E. Palacios. 2006. Effect of hypo- and hyper-saline conditions on osmolarity and fatty acid composition of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) fed low- and high HUFA diets. *Aquacult Res*, 37:1316–1326.
- Hwang, P.A., Y.G. Tsai, S.Y. Gau, Y.L. Hung, C.C. Fan. 2011. Neuroprotective Effects of the Lipidic Extract from Integument of Squid *Dosidicus Gigas*. *J Mar Sci Technol*, 19:101-106.
- Ibrahim, H.M., M.F. Salama, H.A. El-Banna. 1999. Shrimp's waste: Chemical composition, nutritional value and utilization. *Food/Nahrung*, 43:418-423.
- Igel, M., U. Giesa, D. Lutjohann, K. von Bergmann. 2003. Comparison of the intestinal uptake of cholesterol, plant sterols, and stanols in mice. *J Lipid Res*, 44:533–538.
- Igene, J.O., A.M. Pearson, L.R. Dugan, J.F. Price JF. 1980. Role of triglycerides and phospholipids on development of rancidity in model meat systems during frozen storage. *Food Chem*, 5:263–276.
- Ikem, A., N.O. Egiebor. 2005. Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *J Food Compos Anal*, 18:771–787.

- Iwasaki, M., R. Harada. 1985. Proximate and amino acid composition of the roe and muscle of selected marine species. *J Food Sci*, 50:1585–1587.
- Izquierdo, M., I. Forster, S. Divakaran, L. Conquest, O. Decamp, A. Tacon. 2006. Effect of green and clear water and lipid source on survival, growth and biochemical composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutr*, 12:192–202.
- Izquierdo, M.S., A. Obach, L. Arantzamendi, D. Montero, L. Robaina, G. Rosenlund. 2003. Dietary lipid sources for sea bream and sea bass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquac Nutr*, 9:397-407.
- Jahncke, M.L., J.A. Gooch. 1997. Sensory and chemical characteristics of selected Gulf of Mexico coastal herring species. *J Food Sci*, 62:626–631.
- Jáuregui, M.E., M.D. Carrillo, F.P. Romo. 2011. Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Arch Latinoam Nutr*, 61:233-241
- Jin, W.G., H.T. Wu, B.W. Zhu, X.Q. Ran. 2012. Functional properties of gelation-like protein hydrolysates from scallop (*Patinopecten yessoensis*) male gonad. *Eur Food Res Technol*, 234: 863–872.
- Johnson, E.A., M.J. Lewis, C.R. Grau. 1980a. Pigmentation of egg yolks with astaxanthin from the yeast *Phaffia rhodozyma*. *Poultry Sci*, 59:1777–1782.
- Johnson, E.A., T.G. Villa, M.J. Lewis. 1980b. *Phaffia rhodozyma* as an astaxanthin source in salmonid diets. *Aquaculture*, 20:123–134.
- Ju, Z.Y., D.F. Deng, W.G. Dominy, I.P. Forster. 2011. Pigmentation of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by dietary astaxanthin extracted from *Haematococcus pluvialis*. *J World Aquacult Soc*, 42:633–644.
- Kader, A., S. Koshio, M. Ishikawa, S. Yokoyama, M. Bulbul, B.T. Nguyen, A. Laining. 2012. Can fermented soybean meal and squid by-product blend be used as fishmeal replacements for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)? *Aquacult Res*, 43:1427–1438.
- Kader, M.A., S. Koshio, M. Ishikawa, S. Yokoyama, M. Bulbul, Y. Honda, R.E. Mamauag, A. Laining A. 2011. Growth, nutrient utilization, oxidative condition, and element composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed with fermented soybean meal and scallop by-product blend as fishmeal replacement. *Fisheries Sci*, 77:119–128.
- Kalinowski, C.T., L.E. Robaina, H. Fernandez-Palacios, D. Schuchardt, M.S. Izquierdo. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*, 244:223–231.
- Kanazawa, A., S. Teshima. 1977. Biosynthesis of fatty acids from acetate in the prawn, *Penaeus japonicus*. *Mem Fac Fish Kagoshima Univ*, 26: 49–53.
- Kanazawa, A., S. Tokiwa, M. Kayama, M. Hirata. 1977. Essential fatty acids in the diet of prawn: I. Effects of linoleic and linolenic acids on growth. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 43:1111–1114.
- Kanazawa, A. 1985. Nutrition of penaeid prawns and shrimps. In First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps, 4-7 December 1984, Iloilo City, Philippines (pp. 123-130). Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Kanazawa, A. 2001. Sterols in marine invertebrates. *Fisheries Sci*, 67:997–1007.
- Kantha, S.S. 1989. Carotenoids of edible molluscs; A review. *J Food Biochem*, 13:429–442.
- Karadas, F., E. Grammenidis, P.F. Surai, T. Acamovic, N.H.C. Sparks. 2006. Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *Brit Poultry Sci*, 47:561–566.

- Karunajeeva, H., Hughes, R.S., M.W. McDonald, F.S. Shenstone. 1984. A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World Poultry Sci J*, 40:52–65.
- Kerr, R.G., B.J. Baker. 1991. Marine sterols. *Nat Prod Rep*, 8:465–497.
- Kim, S.K., E. Mendis. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts-A review. *Food Res Int*, 39:383–393.
- Kim, S.K. 2014. *Seafood Processing By-Products Trends and Applications*. Springer Science+Business Media, New York, Pp. 597.
- Klasing, K.C. 1998. *Comparative Avian Nutrition*. CAB International. 350 p.
- Knauer, J., R.G. Kerr, D. Lindley, P.C. Southgate PC. 1998. Sterol Metabolism of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) Spat. *Comp Biochem Physiol B*, 119:81-84.
- Kreuzer, R. 1984. *Cephalopods: handling, processing and products*. FAO Fisheries Technical Paper 254.
- Kris-Etherton, P.M., W.S. Harris, L.J. Appel. 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106, 2747-2757.
- Kritchevsky, D., S.C. Chen. 2005. Phytosterols—health benefits and potential concerns: a review. *Nutr Res*, 25:413–428.
- Krzynowek, J., J. Murphy. 1987. Proximate composition, energy, fatty acid, sodium, and cholesterol content of finfish, shellfish, and their products (p. 22). US Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service.
- Krzynowek, J., L.J. Panunzio. 1989. Cholesterol and fatty acids in several species of shrimp. *J Food Sci*, 54:237–239.
- Kusdiana, D., S. Saka. 2004. Effects of water on biodiesel fuel production by supercritical methanol treatment. *Bioresource Technol*, 91, 289-295.
- Laohabanjong, R., C. Tantikitti, S. Benjakul, K. Supamattaya, M. Boonyaratpalin. 2009. Lipid oxidation in fish meal stored under different conditions on growth, feed efficiency and hepatopancreatic cells of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 286:283–289.
- Latscha, T. 1989. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. In *Advances in Tropical Aquaculture, Tahiti (French Polynesia)*, 20 Feb-4 Mar 1989.
- Laxmilatha, P. 2009. Proximate composition of the surf clam *Mactra violacea* (Gmelin 1791). *Indian J Fish*, 56:147–150.
- Lázaro, R., S. Bayarri, P. Conchello, A. Arino, A. Herrera. 1995. Comparación de dos técnicas de extracción de materia grasa para la determinación de residuos organoclorados en alimentos. *Grasas Aceites*, 46:35–38.
- Leeson, S., J. Summers. 2001. *Nutrition of the chicken*. 4th Ed. University Books.
- Lian, P.Z., C.M. Lee, E. Park. 2005. Characterization of squid-processing byproduct hydrolysate and its potential as aquaculture feed ingredient. *J Agr Food Chem*, 53:5587–5592.
- Licon-Jain, A.B. 2010. Respuesta al estrés y calidad bioquímica post-mortem del camarón en relación a la inclusión de subproductos pesqueros en el alimento. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Tesis de Maestría.
- Lim, C., H. Ako, C.L. Brown, K. Hahn. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture* 151:143-153.
- Lin, H.Z., Z.X. Guo, Y.Y. Yang, W.H. Zheng, Z.J. Li. 2004. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. *Aquaculture Res*, 35:1441–1447.

- Lin, H.Z., Z.J. Li, Y.Q. Chen, W.H. Zheng, K. Yang. 2006. Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture*, 253:495–501.
- Liñan-Cabello, M.A., J. Paniagua-Michel, P.M. Hopkins. 2002. Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutr*, 8: 299–309.
- Ljøkjel, K., O.M. Harstad, A. Skrede A. 2000. Effect of heat treatment of soybean meal and fish meal on amino acid digestibility in mink and dairy cows. *Anim Feed Sci Tech*, 84:83–95.
- Lopez-Cervantes, J., D.I. Sanchez-Machado, N.J Rios-Vazquez NJ. 2006. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, α -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *J Chrom A*, 1105:135–139.
- Losada, V., J. Barros-Velázquez, J.M. Gallardo, S.P. Aubourg SP. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *Eur J Lipid Sci Tech*, 106:844–850.
- Luoma, S.N., R. Dagovitz, E. Axtmann. 1990. Temporally intensive study of trace metals in sediments and bivalves from a large river-estuarine system: Suisun Bay/Delta in San Francisco Bay. *Sci Total Environ*, 97:685–712.
- Luzia, L.A., G.R. Sampaio, C.M. Castellucci, E.A. Torres. 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chem.*, 83:93–97.
- Luzzana, U., T. Mentasti, V.M. Moretti, A. Albertini, F. Valfre. 1996. Aspartic acid racemization in fish meal as induced by thermal treatment. *Aquacult Nutr*, 2:95–99.
- Mai, K., H. Li, Q. Ai, Q. Duan, W. Xu, C. Zhang, Z. Liufu. 2006a. Effects of dietary squid viscera meal on growth and cadmium accumulation in tissues of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier 1828). *Aquaculture Res*, 37:1063-1069.
- Mai, K., C. Zhang, Q. Ai, Q. Duan, W. Xu, L. Zhang, B. Tan. 2006b. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*, 251: 346-353.
- Marshall, A.C., A.R. Sams, M.E. Elswyk. 1994. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1.5% menhaden oil. *J Food Sci*, 59:561-563.
- Martín, A. 2000. Developments in the European aqua-feed industry (abstract). In: *Responsible Aquaculture in the New Millennium*. Abstracts of contributions presented at the International Conference Aqua 2000, Nice (France), 2-6 May 2000. European Aquaculture Society Special Publication, No. 28, p. 443.
- Martin-Creuzburg, D., E. Von Elert E. 2004. Impact of 10 dietary sterols on growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *J Chem Ecol*, 30:483–500.
- Martínez-Palacios, C.A., M.C. Chávez-Sánchez, M.A. Olvera-Novoa, I. Abdo de la Parra. 1998. Fuentes alternativas de proteína vegetal como sustitutos de la harina de pescado para la alimentación en acuicultura. En: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D. y Mendoza, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola III*. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 11-13 de Noviembre de 1996. Monterrey, Nuevo León, México.
- Martínez-Vega, J.A., L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie. 2000. Composición corporal y proceso de secado del calamar gigante *Dosidicus gigas*. *Cienc Mar*, 4:35–38.
- Martínez-Vega, J.A. 1997. Procesamiento y utilización de diferentes partes del cuerpo de calamar gigante *Dosidicus gigas* en forma de harina como factor de crecimiento en dietas de crecimiento para *Peneaus vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León. División de Estudios de Posgrado. Pp 71.

- Mathew, S., K. Ammu, P.G. Viswanathan Nair, K.Devadasan K. 1999.Cholesterol content of Indian fish and shellfish. *Food Chem*, 66: 455–461.
- McGraw, W.J. 2002. Utilización de bacterias heterotróficas y autotróficas en la acuicultura. *Advocate*, 82, 83.
- McNaughton, J.L. 1978. Effect of dietary fiber on egg yolk liver and plasma cholesterol concentrations on the laying hen. *J Nutr*, 108:1842-1848.
- Melendez-Martinez, A.J., I.M. Vicario, F.J. Heredia. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos.*Arch Latinoam Nutr*, 54:209–215
- Mendoza, R., A. Revol, C. Fauvel, J. Patrois, J.C. Guillaume. 1997. Influence of squid extracts on the triggering of secondary vitellogenesis in *Penaeus vannamei*. *Aquacult Nutr*, 3:55–63.
- Mercier, L., I.S. Racotta, G. Yepiz-Plascencia, A. Muhlia-Almazán, R. Civera, M.F. Quiñones-Arreola, M. Willec, P. Sorgeloos, E. Palacios. 2009. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. *Aquac Res*, 40:1849–1863.
- Mihaljevic, B., B. Katusin-Razem, D. Razem. 1996. The reevaluation of the ferric thiocyanate assay for lipid hydroperoxides with special considerations of the mechanistic aspects of the response. *Free Radical Bio Med*, 21: 53–63.
- Mika, A., M. Gołębiowski, E.F. Skorkowski, P. Stepnowski P. 2012. Composition of fatty acids and sterols composition in brown shrimp *Crangon crangon* and herring *Clupea harengus membras* from the Baltic Sea. *Oceanol. Hydrobiol St*, 41:57–64.
- Miki, W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl Chem*, 63:141–146.
- Miles, R.D., F.A. Chapman. 2006. The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets. University of Florida IFAS Extension, 122:1–7.
- Milinsk, M.C., A.E. Murakami, S.T.M. Gomes, M. Matsushita, N.E. De Souza. 2003. Fatty acid profile of egg yolk lipids from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Food Chem*, 83:287–292.
- Milke, L.M., V.M. Bricelj, C.C. Parrish. 2004. Growth of postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*, on microalgal diets, with emphasis on the nutritional role of lipids and fatty acids. *Aquaculture*, 234:293–317.
- Miller, E.L., A.P. Bimbo, S.M. Barlow, B. Sheridan, L.B.W. Burks. 2007. Repeatability and reproducibility of determination of the nitrogen content of fishmeal by the combustion (Dumas) method and comparison with the Kjeldahl method: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.*, 90:6–20.
- Miyashita, K., N. Tateda, T. Ota. 1994. Oxidative Stability of Free Fatty Acid Mixtures from Soybean, Linseed, and Sardine Oils in an Aqueous Solution. *Fisheries Sci*, 60:315–318.
- Mizani, M., M. Aminlari, M. Khodabandeh. 2005. An effective method for producing a nutritive protein extract powder from shrimp-head waste. *Food Sci Technol Int*, 11:49–54.
- Mol, S. 2011. Levels of heavy metals in canned bonito, sardines, and mackerel produced in Turkey. *Biol Trace Elem Res*, 143:974–982.
- Morzell, M., P. Gatellier, T. Sayd, M. Renerre, E. Laville E. 2006. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *Meat Sci*, 73:536-543.

- Myer, R.O., D.D. Johnson, W.S. Otwell, W.R. Walker, G.E. Combs. 1988. Potential utilization of scallop viscera silage for solid waste management and as a feedstuff for swine. *Nutr Rep Int*, 37:499-514.
- Myer, R.O., D.D. Johnson, W.S. Otwell, W.R. Walker, G.E. Combs. 1990. Evaluation of scallop viscera silage as a high-protein feedstuff for growing-finishing swine. *Anim Feed Sci Tech*, 31:43-53.
- Nakamura, M.T., T.Y. Nara. 2003. Essential fatty acid synthesis and its regulation in mammals. *PLEFA*, 68:145-150.
- Napolitano, G.E., R.G. Ackman. 1992. Anatomical distributions and temporal variations of lipid classes in sea scallops *Placopecten magellanicus* (Gmelin) from Georges Bank (Nova Scotia). *Comp Biochem Phys B*, 103:645–650.
- Napolitano, G.E., R.G. Ackman, M.A. Silva-Serra. 1993. Incorporation of dietary sterols by the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) fed on microalgae. *Mar Biol*, 117:647–654.
- Narayan, B., S.P. Velappan, S.P. Zituji, S.N. Manjabhatta, L.R. Gowda. 2010. Yield and chemical composition of fractions from fermented shrimp biowaste. *Waste Manage Res*, 28:64-70.
- National Research Council (NRC). 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. Ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Navarro, C., A.I. Beltran-Lugo, R. Civera, I.S. Racotta, E. Palacios E. Optimizing n-3 HUFA levels in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* using “finishing diets”. *Aquaculture 2013*. Nashville, Tennessee, USA. 21 a 25 de Febrero de 2013
- Navarro-Hurtado, C.L. 2011. Evaluación de una dieta terminal para la producción de músculo enriquecido con ácidos grasos omega 3 en el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* de talla de cosecha. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Tesis de Licenciatura.
- Naylor, R.L., R.W. Hardy, D.P. Bureau, A. Chiu, M. Elliott, A.P. Farrell, I. Forster, D.M. Gatlin, R.J. Goldberg, K. Huac, P.D. Nichols. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *P Natl Acad Sci USA*, 106:15103–15110.
- Nguyen, H.T.M., S.B. Sylla, Z. Randriamahatody, C. Donnay-Moreno, J. Moreau, L.T. Tran, J.P. Bergé. 2011. Enzymatic hydrolysis of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) by-products using Protamex protease. *Food Technol Biotech*, 49:48–55.
- Nigmatullin, C.M., K.N. Nesis, A.I. Arkhipkin. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fish Res*, 54:9–19.
- Nishide, E., H. Uchida. 2003. Effects of *Ulva* powder on the ingestion and excretion of cholesterol in rats, *Proceedings of the 17th Inter-national Seaweed Symposium*. Eds. Chapman ARO, Anderson RJ, Vreeland VJ and Davisons IR. Oxford University Press, Oxford. Pp. 165-168.
- Niu, J., L.X. Tian, Y.J. Liu, H.J. Yang, C.X. Ye, W. Gao, K. Mai. 2009. Effect of dietary astaxanthin on growth, survival, and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J World Aquacult Soc*, 40: 795–802.
- Niu, J., H. Wen, C.H. Li, Y. Liu, L. Tian, X. Chen, Z. Huang, H. Lin. 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and b-carotene in the presence and absence of cholesterol supplementation on growth performance, antioxidant capacity and gene expression of *Penaeus monodon* under normoxia and hypoxia condition. *Aquaculture*, 422:8–17.
- Norma mexicana NMX-FF-079-SCFI-2004. Norma mexicana para productos avícolas. Huevo fresco de gallina. Especificaciones y métodos de prueba. 23 pp.

- Nunan, L.M., B.T. Poulos, D.V. Lightner. 1998. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. *Aquaculture*, 160:19–30.
- Núñez-Gastélum, J.A., D.I. Sánchez-Machado, J. López-Cervantes, P. Paseiro-Losada, R. Sendón, A.T. Sanches-Silva, H.S. Costa, G.P. Aurrekoetxea, I. Angulo, H. Soto-Valdez. 2011. Evaluación físico-química de aceite pigmentado obtenido de cabezas de camarón. *Grasas y aceites*, 62:321–327.
- Nwanna, L.C. 2003. Nutritional value and digestibility of fermented shrimp head waste meal by African catfish *Clarias gariepinus*. *Pak J Nutr*, 2:339–345.
- Obaldo, L.G., S. Divakaran, A.G. Tacon. 2002. Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquac Res*, 33:369–367.
- Oduro, F.A., N.D. Choi, H.S. Ryu. 2011. Effects of cooking conditions on the protein quality of chub mackerel *Scomber japonicus*. *Fish Aquat Sci*, 14:257–265.
- Oh, S.Y., J. Ryue, C.H. Hsieh, D.E. Bell. 1991. Eggs enriched in omega-3 fatty acids and alterations in lipid concentrations in plasma and lipoproteins and in blood pressure. *Am J Clin Nutr*, 54:689–695.
- O'Leary, C.D., A.D. Matthews. 1990. Lipid class distribution and fatty acid composition of wild and farmed prawn, *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture*, 89:65–81.
- Olsen, R.E., R. Waagbø, W. Melle, E. Ringø, S.P. Lall. 2011. Alternative Marine Sources. En: Turchini, G., Wing-Keong, N., Tocher, D (Eds). *Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*, CRC Press, Boca raton, Florida, EU.
- Opstvedt, J., H. Mundheim. 1988. A survey on studies on Norwegian LT-fishmeal. Norwegian Herring Oil and Meal Industry Research Institute, Fyllingsdalen, Norway. 39p. URL <http://www.iffonet.org/system/files/Norwegian%20LT-Fishmeal%201988-5.pdf>
- Opstvedt, J., R. Miller, R.W. Hardy, J. Spinelli. 1984. Heat-induced changes in sulfhydryl groups and disulfide bonds in fish protein and their effect on protein and amino acid digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J Agric Food Chem*, 32:929-935.
- Opstvedt, J., E. Nygård, T.A. Samuelsen, G. Venturini, U. Luzzana, H. Mundheim. 2003. Effect on protein digestibility of different processing conditions in the production of fish meal and fish feed. *J Sci Food Agric*, 83:775-782.
- Osawa, A., K. Ito, N. Fukuo, T. Maoka, H. Tsuruoka, K. Shindo. 2014. Changes of carotenoids in Atlantic salmon by heat cooking and the singlet oxygen quenching activities of the artificially produced carotenoids. *J Food Process Tech*, 5:1–5.
- Ostlund, R.E. 2007. Phytosterols, cholesterol absorption and healthy diets. *Lipids*, 42:41–45.
- Ott, .LR. 1992. Analyzing data: analysis of variance methods. En: Ott R.L. y Longnecker M.T. (Eds.). *An introduction to statistical methods and data analysis*. 4th Edición. Doxbury Press, Belmont, CA, EUA.
- Ou, S., K.C. Kwok, Y. Kang Y. 2004. Changes in in vitro digestibility and available lysine of soy protein isolate after formation of film. *J Food Eng*, 64:301–305.
- Ouédraogo, O., M. Amyot. 2011. Effects of various cooking methods and food components on bioaccessibility of mercury from fish. *Environ Res*, 111:1064–1069
- Oujifard, A., J. Seyfabadi, A.A. Kenari, M. Rezaei M. 2012. Growth and apparent digestibility of nutrients, fatty acids and amino acids in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with rice protein concentrate as total and partial replacement of fish meal. *Aquaculture*, 342:56–61.
- Ouraji, H., A.M. Abedian Kenari, B. Shabanpour, A. Shabani, S.A. Nezami, M. Sodagar, K. Jani Khalili, S. Faghani. 2010. Growth response and muscle lipid quality of Indian white shrimp fed different oils at two dietary lipid levels. *J Food Quality*, 33:405–423.

- Ouraji, H., B. Shabanpour, A.A. Kenari, A. Shabani, S. Nezami, M. Sudagar, S. Faghani. 2009. Total lipid, fatty acid composition and lipid oxidation of Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) fed diets containing different lipid sources. *J Sci Food Agr*, 89: 993–997.
- Ovissipour, M., A.A. Kenari, A. Motamedzadegan, R.M. Nazari. 2012. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Bioprocess Technol*, 5:696–705.
- Pacheco, M., Á. Campa, G. Aguirre, A. Luna, M. Guzmán, F. Ascencio. 2012. Efecto de *Debaryomyces hansenii* en la respuesta antioxidante de juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Revista MVZ Córdoba*, 17:2820–2826.
- Padley, F.B., F.D. Gunstone, J.L. Harwood. 1994. Occurrence and characteristics of oils and fats. En: Gunstone, F.D., Harwood JL, Padley FB. (Eds), *The Lipid Handbook*, 2nd ed. Cambridge, Chapman and Hall, pp. 47-223.
- Paez-Osuna, F., L. Tron-Mayen. Distribution of heavy metals in tissues of the shrimp *Penaeus californiensis* from the northwest coast of Mexico. *B Environ Contam Tox*, 55:209–215.
- Palacios, E., A. Bonilla, A. Perez, I.S. Racotta, R. Civera. 2004. Influence of highly unsaturated fatty acids on the response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity. *J Exp Mar Biol Ecol*, 299:201–215.
- Palacios, E., A.M. Ibarra, I.S. Racotta. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture*, 185:353–371.
- Palacios, E., I.S. Racotta, O. Arjona, Y. Marty, J.R. Le Coz, J. Moal, J.F. Samain. 2007. Lipid composition of the pacific lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*, in relation to gametogenesis 2. Lipid classes and sterols. *Aquaculture* 266:266–273.
- Palacios, E., I.S. Racotta, E. Kraffe, Y. Marty, J. Moal, J.F. Samain. 2005. Lipid composition of the giant lion's-paw scallop (*Nodipecten subnodosus*) in relation to gametogenesis: I. Fatty acids. *Aquaculture*, 250:270–282.
- Panlasigui, L.N., O.Q. Baello, J.M. Dimatangal, B.D. Dumelod. 2003. Blood cholesterol and lipid-lowering effects of carrageenan on human volunteers. *Asia-Pacific J Clin Nutr*. 12:209–214.
- Papadopoulos, M.C. 1989. Effect of processing on high-protein feedstuffs: a review. *Biol Waste*, 29:123–138.
- Parisenti, J., L.H. Beirão, M. Maraschin, J.L. Mourino, F. Do Nascimento Vieira, L.H. Bedin LH, E. Rodrigues. 2011. Pigmentation and carotenoid content of shrimp fed with *Haematococcus pluvialis* and soy lecithin. *Aquacult Nutr*, 17:530–535.
- Parrilla-Taylor, D.P., T. Zenteno-Savín, F.J. Magallón-Barajas, 2013. Antioxidant enzyme activity in pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to infection with white spot syndrome virus. *Aquaculture*, 380:41–46.
- Patnaik, S., T.M. Samocha, D.A. Davis, R.A. Bullis, C.L. Browdy. 2006. The use of HUFA-rich algal meals in diets for *Litopenaeus vannamei*. *Acuacult Nutr*, 12: 395–401.
- Pazos, A.J., J.L. Sánchez, G. Román, M.L. Pérez-Parallé, M. Abad. 2003. Seasonal changes in lipid classes and fatty acid composition in the digestive gland of *Pecten maximus*. *Comp Biochem Phys B*, 134:367–380.
- Percot, A., C. Viton, A. Domard. 2003. Characterization of shrimp shell deproteinization. *Biomacromolecules*, 4:1380–1385.
- Perelló, G., R. Martí-Cid, J.M. Llobet, J.L. Domingo. 2008. Effects of various cooking processes on the concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods. *J Agr Food Chem*, 56:11262–11269.

- Pérez-Palacios, T., J. Ruiz, D. Martín, E. Muriel, T. Antequera T. 2008. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. *Food Chem.*, 110:1025–1029.
- Pérez-Santín, E., M. Calvo, M. López-Caballero, P. Montero, M. Gómez-Guillén. 2013. Compositional properties and bioactive potential of waste material from shrimp cooking juice. *LWT-Food Sci. Technol*, 54:87–94.
- Pesti, G.M., R.I. Bakalli. 1998. Studies on the effect of feeding cupric sulfate pentahydrate to laying hens on egg cholesterol content. *Poultry science*, 77(10), 1540–1545.
- Phillips, K.L., G.D. Jackson, P.D. Nichols. 2001. Predation on myctophids by the squid *Moroteuthis ingens* around Macquarie and Heard Islands: stomach contents and fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser*, 215,179–189.
- Phillips, K.M., D.M. Ruggio, J. Exler, K.Y. Patterson. 2012. Sterol composition of shellfish species commonly consumed in the United States. *Food Nutr Res*, 56:1–17.
- Phleger, C.F., M.M. Nelson, B.D. Mooney, P.D. Nichols. 2002. Interannual and between species comparison of the lipids, fatty acids and sterols of Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area. *Comp Biochem Physiol*, 131:733–747.
- Pistelli, D., L. Bertone, M. Bianchi, N. Lopresti. 2002. Aceite de pescado. *Invenio*, 5:145–156.
- Ponce, L.E., A.G. Gernat. 2002. The effect of using different levels of tilapia by-product meal in broiler diets. *Poultry Sci*, 81:1045–1049.
- Ponce-Palafox, J.L., J. Arredondo-Figueroa, E. Vernon-Carter. 2006. Carotenoids from plants used in diets for the culture of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Rev Mex Ing Quím*, 5, 157–165.
- Prochaska, J.F., J.B. Carey, D.J. Shafer. 1996. The effect of L-lysine intake on egg component yield and composition in laying hens. *Poultry Sci*, 75:1268–1277.
- Puga-López, D., J.T. Ponce-Palafox, G. Barba-Quintero, M.R. Torres-Herrera, E. Romero-Beltrán, J.A. Figueroa. 2013. A Comparative Study of Physico-Chemical, Proximate Composition and Microbiological Muscle Properties, in Two Species Shrimps of the Pacific Tropical Coast. *JASA*, 2:151–154.
- Puga-López, D., J.T. Ponce-Palafox, G. Barba-Quintero, M.R. Torres-Herrera, E. Romero-Beltrán, J.L. Arredondo-Figueroa, M. García-Ulloa. 2013. Physicochemical, proximate composition, microbiological and sensory analysis of farmed and wild harvested white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) tissues. *Curr Res J Biol Sci*, 5, 130–135.
- Quitral, V., L. Abugoch, J. Vinagre, M. Larraín. 2001. Efecto de tratamientos térmicos sobre el contenido de lisina disponible en carne de jaiba mora (*Homalaspis plana*). *Arch Latinoam Nutr*. 51: 382-385.
- Racotta, I.S., E. Palacios, A.M. Ibarra, J.L. Ramírez, F. Arcos, O. Arjona. 2008. Comparative biochemical composition of ploidy groups of the lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus* Sowerby) supports the physiological hypothesis for the lack of advantage in triploid mollusc's growth in food-rich environments. *Mar Biol*, 153:1245-1256.
- Racotta, I.S., J.L. Ramirez, S. Avila, A.M. Ibarra. 1998. Biochemical composition of gonad and muscle in the catarina scallop, *Argopecten ventricosus*, after reproductive conditioning under two feeding systems. *Aquaculture*, 163:111-122.
- Racotta, I.S., J.L. Ramírez, A.M. Ibarra, M.C. Rodríguez-Jaramillo, D. Carreño, E. Palacios. 2003. Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten* (*Lyropecten*) *subnodosus*. *Aquaculture*, 217:335-349.
- Raimundo, J., C. Vale, R. Rosa. 2014. Trace element concentrations in the top predator jumbo squid (*Dosidicus gigas*) from the Gulf of California. *Ecotox Environ Safe*, 102:179–186.

- Ramasamy, K., N. Abdullah, S. Jalaludin, M. Wong, Y.W. Ho. 2009. Effects of *Lactobacillus* cultures on performance of laying hens, and total cholesterol, lipid and fatty acid composition of egg yolk. *J Sci Food Agric*, 89:482–486.
- Ramírez, J., J. Añorve, E. Contreras, J. Jaimez, C. Romo. 2010. Efecto de la suplementación con aceite de hígado de bacalao en la composición química de huevos de gallinas ponedoras. En *Memorias del XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 27-28 de Mayo de 2010. Guanajuato, Guanajuato, México.
- Ratti, C. 2001. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *J Food Eng*, 49:311–319.
- Ravichandran, S., G. Rameshkumar, A.R. Prince. 2009. Biochemical composition of shell and flesh of the Indian white shrimp *Penaeus indicus* (H. milne Edwards 1837). *American-Eurasian J Sci Res*, 4:191–194.
- Ravindran, V. 2013. Principales ingredientes utilizados en las formulaciones de alimentos para aves de corral. En: *Revisión del desarrollo avícola*, FAO (Ed). Roma, Italia. Pp. 71.
- Rehman, Z., W.H. Shah. 2005. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chem.*, 91:327–331.
- Reitmeier, C.A., K.J. Prusa. 1987. Cholesterol content and sensory analysis of ground pork as influenced by fat level and heating. *J Food Sci*, 52:916–918.
- Reyes-Becerra, A. 2011. Uso de una harina de subproductos de almeja catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842) como fuente de proteína en alimentos para el camarón *Litopenaeus vannamei*. Efectos sobre el crecimiento y la digestibilidad. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Rincón, D.D., H.A. Velásquez, M.J. Dávila, A.M. Semprun, E.D. Morales, J.L. Hernández. 2012. Niveles de sustitución de harina de pescado por harina de *Arthrospira* (= *Spirulina*) *maxima*, en dietas experimentales para alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Rev Colom Cienc Pecua*, 25:430-437.
- Rivas-Vega, M.E., O. Rouzaud-Sandez, M.G. Salazar-García, J.M. Ezquerro-Brauer, E. Goytortúa-Bores, R. Civera-Cerecedo. 2009. Physicochemical properties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) meals and their apparent digestibility in white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Hidrobiológica* 19:15–23.
- Rivas-Vega, M.E., E. Goytortúa-Bores, J.M. Ezquerro-Brauer, M.G. Salazar-García, L.E. Cruz-Suárez, H. Nolasco, R. Civera-Cerecedo. 2006. Nutritional value of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) meals as ingredients in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *J Food Chem*, 97:41–49.
- Rizzi, L., D. Bochicchio, A. Bargellini, P. Parazza, M. Simioli M. 2009. Effects of dietary microalgae, other lipid sources, inorganic selenium and iodine on yolk n-3 fatty acid composition, selenium content and quality of eggs in laying hens. *J Sci Food Agric*, 89:1775–1781.
- Robert, P., L. Masson, N. Romero, M. Dobarganes, M. Izaurieta, J. Ortíz, E. Wittig. 2001. Fritura industrial de patatas crisps. Influencia del grado de insaturación de la grasa de fritura sobre la estabilidad oxidativa durante el almacenamiento. *Grasas y Aceites*, 52:389–396.
- Rodríguez, J., R. Cedeño, C. Molina, V. Otero, E. Valenzuela, M.A. Sotomayor. 2000. Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune del camarón *Penaeus vannamei*. *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Pp. 19-22.

- Rodriguez-Amaya, D.B. 1999. Carotenoides y preparación de alimentos: La retención de los Carotenoides Provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos.
- Rojas-Gordillo, I. 2005. Análisis de energía en dos puntos críticos en una industria productora de harina de pescado. Tesis de Universidad de Puerto Rico.
- Rosa, R., M.L. Nunes. 2003. Tissue biochemical composition in relation to the reproductive cycle of deep-sea decapod *Aristeus antennatus* in the Portuguese south coast. *J Mar Biol Assoc UK*, 83:963–970.
- Rosa, R., J. Pereira, M.L. Nunes. 2005. Biochemical composition of cephalopods with different life strategies, with special reference to a giant squid, *Architeuthis* sp. *Mar. Biol*, 146:739-751.
- RUBIN (Recirculation and Use of By-products in Norway), 1998. Final report from the Project RUBIN (Recirculation and Use of By-products in Norway), Ø. Bækken, and S. Bekkevold (Eds.).
- Rubio-Rodríguez, N., S.M. De Diego, S. Beltrán, I. Jaime, M.T. Sanz, J. Rovira. 2012. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. *J Food Eng*, 109:238–248.
- Rudzińska, M., R. Przybylski, E. Wąsowicz. 2009. Products formed during thermo-oxidative degradation of phytosterols. *J Am Oil Chem Soc*, 86:651–662.
- Samocha, T., D.A. Davis, I.P. Saoud, K. DeBault. 2004. Substitution of fish meal by co-extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 231:197–203.
- Sánchez-Camargo, A.P., M.Â. Almeida Meireles, L.F. Lopes, F.A. Cabral. 2011. Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *J Food Eng*, 102:87–93.
- Sandbol, P. 1993. Nueva tecnología en la producción de harina de pescado para piensos: implicaciones sobre la evaluación de la calidad. IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, España.
- Sargent, J.R., D.R. Tocher, J.G. Bell. 2002. The lipids. En: Halver, J.E., Hardy, R.W. (eds) *Fish Nutrition*. Third edition. San Diego: Academic Press, 181–257
- Sathivel, S., P.J. Bechtel, J. Babbitt, S. Smiley, C. Crapo, K.D. Reppond, W. Prinyawiwatkul. 2003. Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. *J Food Sci*, 68:2196–2200.
- Sathivel, S., S. Smiley, W. Prinyawiwatkul, P.J. Bechtel PJ. 2005. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *J Food Sci*, 70:401–406.
- Sauveur, B. 1988. Reproduction and egg production in poultry. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- Sauveur, B. 1993. El huevo para consumo: bases productivas. Mundi Prensa. AEDOS, INRA. España. 401 pp.
- SCAHAW, EC. 2003. The use of fish by-products in aquaculture Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare European Commission, Health and Consumer Protection Directorate General.
- Schaefer, K. 1980. Synopsis of biological data on the chub mackerel, *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782, in the Pacific Ocean. Spec. Rep. Inter-Am. Trop. Tuna Commn., 2:395-446
- Schaich, K.M. 2008. Co-oxidation of Proteins by Oxidizing Lipids: Reactions with proteins, En: Kamal-Eldin, A., Min, D. (Eds), *Lipid Oxidation Pathways*. AOCS Press: Urbana, Illinois, pp. 183–274.

- Scheideler, S.E., G.W. Froning. 1996. The combined influence of dietary flaxseed variety, level, form, and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-supplemented hens. *Poultry Sci*, 75:1221–1226.
- Schimke, I., A. Griesmacher, G. Weigel, M.M. Muller, H.G. Holzutter HG. 1992. Effects of reactive oxygen species on eicosanoid metabolism in human endothelial cells. *Prostaglandins*. 43:281–292.
- Schmalko, M.E., P.G. Scipioni, D.J. Ferreyra, S.M. Alzamora. 2001. Efecto de la actividad del agua y la temperatura en la degradación de la clorofila y el color en hojas de yerba mate. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.
- Schreiner, M., H.W. Hulan, E. Razzazi-Fazeli, J. Böhm, C. Iben. 2004. Feeding laying hens seal blubber oil: effects on egg yolk incorporation, stereospecific distribution of omega-3 fatty acids, and sensory aspects. *Poultry Sci*, 83:462–473.
- Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare (SCAHAW). 2003. The use of fish by products in aquaculture. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare European Commission Health & Consumer Protection Direction.
- Sclabos, D., R. Toro. 2003. Natural foods through marine krill meal. *Aquafeed.com* 09/09/2015 <http://www.aquafeed.com>
- SEAFISH. 2008. Options for utilizing seafood by-products and waste disposal. Available at: <http://www.seafish.org/land/sustainability.asp?p=fj476>.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2012. Carta Nacional Pesquera, Diario Oficial (Segunda sección). Viernes 24 de Agosto del 2012.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2011. Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura. Última actualización: 4 de Julio del 2012.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2012. Carta Nacional Acuícola, Diario Oficial (Segunda sección). Miércoles 6 de Junio del 2012.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2013. Seguimiento mensual de la producción de camarón de cultivo Enero-Diciembre (2003-2012/p). Última modificación: 13 de Febrero del 2013.
- Shafer, D.J., J.B. Carey, J.F. Prochaska. 1996. Effect of dietary methionine intake on egg component yield and composition. *Poultry Sci*, 75:1080–1085.
- Shahidi, F., J.A. Metusalach. 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38:1–67.
- Shahidi, F., M. Naczki, R.B. Pegg, J. Synowiecki. 1991. Chemical composition and nutritional value of processing discards of cod (*Gadus morhua*). *Food Chem*, 42:145–151.
- Shahidi, F. 1994. Seafood processing byproducts. En: Shahidi, F., Botta, J.R. (Eds), *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie: London, England, pp 321–324.
- Sherwin, E.R. 1978. Oxidation and Antioxidants in Fat and Oil Processing. *JAOCS*, 55:809–814.
- Shirai, K., I. Guerrero, S. Huerta, G. Saucedo, G. Rodriguez, G.M. Hall. 1997. Aspects in protein breakdown during the lactic acid fermentation. En: Domard A, Roberts GAF, Varum KM, editors. *Advances in chitin science*, vol. II. Lyon: Jaques Andre Publisher, 1997:56-63.
- Shirley, R.B., C.M. Parsons. 2000. Effect of pressure processing on amino acid digestibility of meat and bone meal for poultry. *Poultry Sci*, 79:1775-1781.

- Siddhuraju, P., P. Becker. 2005. Nutritional and antinutritional composition, in vitro amino acids availability, starch digestibility and predicted glycemic index of differentially processed mucuna beans (*Mucuna pruriens* var. utilis): An under-utilised legume. *Food Chem*, 91:275–286.
- Simopoulos, A.P. 2000. Human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Sci*, 79:961–970.
- Simopoulos, A.P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56:365-379.
- Sinanoglou, V.J., S. Miniadis-Meimaroglou. 1998. Fatty acid of neutral and polar lipids of (edible) Mediterranean cephalopods. *Food Res Int*, 31:467-473.
- Sinanoglou, V.J., I.F. Strati, S. Miniadis-Meimaroglou. 2011. Lipid, fatty acid and carotenoid content of edible egg yolks from avian species: A comparative study. *Food Chem*, 124:971-977.
- Sokal, R.R. 1995. Assumption of analysis of variance. En: Sokal R.R. and Rohlf F.J. (Eds.). *Biometry: Principles and practice of statistic in biological research*. 3rd Edition. W.H. Freeman and Company, New York, USA. pp. 392-450.
- Solís-Guzmán, V. 2008. Supervivencia del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Bonne, 1931) en una granja comercial. Memoria de Experiencia Profesional. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. Facultad de Biología. Pp 78.
- Souchet, N., S. Laplante S. 2007. Seasonal and geographical variations of sterol composition in snow crab hepatopancreas and pelagic fish viscera from Eastern Quebec. *Comp Biochem Phys B*, 147:378-386.
- Soudant, P., J.R. Le Coz, Y. Marty, J. Moal, R. Robert, J.F. Samain. 1998. Incorporation of microalgae sterols by scallop *Pecten maximus* (L.) larvae. *Comp Biochem Phys A*, 119:451–457.
- Soudant, P., M.V. Sanles, C. Quere, J.R. Coz, Y. Marty, J. Moal, J.F. Samain, P. Sorgeloos. 2000. The use of lipid emulsions for sterol supplementation of spat of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 184:315-326.
- Souissi, N., A. Bougatef, Y. Triki-Ellouz, M. Nasri. 2007. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technol and Biotech*, 45:187–194.
- Spinelli, J., L. Lehman, D. Wieg. 1974. Composition, processing, and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural feed ingredient. *J Fish Board of Can*, 31:1025–1029.
- Steel, R., J.H. Torrie. 1996. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. Segunda edición. Mc Graw-Hill. México, D.F. 622 pp.
- Strickland, J., Parsons. 1972. A practical handbook of sea water analysis. *B Fish Res Board Can* 167:1-130.
- Sturmer, L.N., K.L. Morgan, R.L. Degner. 2011. Nutritional Composition and Marketable Shelf-Life of Blood Ark Clams and Ponderous Ark Clams. IFAS Extension.1-5.
- Suárez, J.A., G. Gaxiola, R. Mendoza, S. Cadavid, G. Garcia, G. Alanis, G. Cuzon. 2009. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquaculture*, 289: 118-123.
- Surai, P.F., N.H.C. Sparks. 2000. Tissue-specific fatty acid and α -tocopherol profiles in male chickens depending on dietary tuna oil and vitamin E provision. *Poultry Sci*, 79, 1132–1142.
- Surai, P.F., B.K. Speake, N.H.C. Sparks. 2001. Carotenoids in avian nutrition and embryonic development. 1. Absorption, availability and levels in plasma and egg yolk. *J Poult Sci*, 38:1-27.

- Tacon, A.G., J.V. Haaster, P.B. Featherstone, K. Kerr, A.J. Jackson. 1983. Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. *B Jpn Soc Sci Fish*, 49:1437-1443.
- Tacon, A.G., M.R. Hasan, R.P. Subasinghe. 2006. Use of fishery resources as feed inputs for aquaculture development: trends and policy implications. *FAO Fisheries Circular* (1018). Rome, FAO; p. 99.
- Tacon, A.G. 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp- A training manual 2. Nutrient sources and composition. A report prepared for FAO Fund GCP/RLA/075/ITA., 179 pp.
- Tacon, A.G. 1987. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp—A Training Manual. 1. The Essential Nutrients. Food and Agriculture Organization of the United Nations, GCP/RLA/075/ITA, Brazil, 117 pp.
- Tacon, A.G. 1989. Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones cultivados Manual de Capacitación. Proyecto GCP/RLA/102/ITA, FAO, Brasilia, Brasil.
- Takagi, T., A. Sakai, K. Hayashi, Y. Itabashi. 1979. Occurrence of plant sterols in aquatic vertebrates. *Lipids*, 14:5–8.
- Takeungwongtrakul, S., S. Benjakul. 2012. Lipids from cephalothorax and hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Compositions and deterioration as affected by iced storage. *Food Chem*, 134:2066–2074.
- Tan, B., K. Mai, S. Zheng, Q. Zhou, L. Liu, Y. Yu. 2005. Replacement of fish meal by meat and bone meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquacult Res*, 36:439–444.
- Terrazas Fierro, M.M., E. Ávila González, M. Cuca García, H. Nolasco Soria. 2005. Efecto de la incorporación de harina de pescado con distinto grado de cocción a dietas para pollos de engorda formuladas a un perfil de aminoácidos digestibles. *Téc Pecu Méx*, 43:297–308.
- Terrazas-Fierro, M., R. Civera-Cerecedo, L. Ibarra-Martínez, E. Goytortúa-Bores, M. Herrera-Andrade, A. Reyes-Becerra. 2010. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 308:166–73.
- Terrazas-Fierro, M.M. 2010. Digestibilidad aparente *in vivo* de materia seca, proteína y aminoácidos de ingredientes de origen marino y terrestre, y su aplicación para el estudio de requerimiento nutricionales en juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Tesis Doctoral.
- Teshima, S., A. Kanazawa. 1971. Biosynthesis of sterols in the lobster, *Panulirus japonica*, the prawn, *Penaeus japonicus*, and the crab, *Portunustrituberculatus*. *Comp Biochem Physiol*, 38:597–602.
- Teshima, S., A. Kanazawa, H. Sasada. 1983. Nutritional value of dietary cholesterol and other sterols to larval prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*, 31:159–167.
- Tocher, D.R., J.G. Bell, J.R. Sargent. 1996. Induction of $\Delta 9$ -fatty acyl desaturation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver by dietary manipulation. *Comp Biochem Phys B*, 113:205–212.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev Fisheries Sci* 11:107–184.
- Tolasa, S., S. Cakli, U. Ostermeyer. 2005. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. *Eu Food Res Technol*, 221:787–791.
- Toussaint, C.A., F. Médale, A. Davenel, B. Fauconneau, P. Haffray, S. Akoka. 2002. Determination of the lipid content in fish muscle by a self-calibrated NMR relaxometry

- method: comparison with classical chemical extraction methods. *J Sci Food Agric*, 82:173–178.
- Tsalev, D.L., V.I. Slaveykova, L. Lampugnani, A. D'Ulivo, R. Georgieva. 2000. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry—advances, anticipations and reality. *Spectrochim Acta B Atomic Spectrosc.* 55: 473–490.
- Tsape, K., V.J. Sinanoglou, S. Miniadis-Meimaroglou. 2010. Comparative analysis of the fatty acid and sterol profiles of widely consumed Mediterranean crustacean species. *Food Chem*, 122:292–299.
- Tudela, V. 2002. El colesterol: lo bueno y lo malo. Fondo de Cultura Económica, México, Pp. 49.
- Turan, H., Y. Kaya, M.E. Erdem. 2011. Proximate composition, cholesterol, and fatty acid content of brown shrimp (*Crangon crangon* L. 1758) from Sinop region, Black Sea. *J Aquat Food Prod T*, 20:100–107.
- UNA (Union Nacional de Avicultores) 2014. <http://una.org.mx/index.php/component/content/article?layout=edit&id=44>
- United States Department of Agriculture (USDA). 2002. Agricultural Research Service. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 15. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>
- Uzcátegui-Bracho, S., A. Rodas-González, K. Hennig, L.A. de Moreno, M. Leal, J. Vergara-López, N. Jerez-Timaure. 2008. Composición proximal, mineral y contenido de colesterol del músculo *Longissimus dorsi* de novillos criollo limonero suplementados a pastoreo. *Revista Científica*, 18:589–594.
- Valenzuela, A., J. Sanhueza, F. de la Barra. 2012. El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional. *Rev Chil Nutr*, 39:201–209.
- Valenzuela A. 2008. Ácidos grasos con isomería trans I: Su origen y los efectos en la salud humana. *Rev Chil Nutr*, 35:162–171.
- Valverde, J.C., M.D. Hernández, S. García-Garrido, C. Rodríguez, J. Estefanell, J.I. Gairín, B.G. García. 2012. Lipid classes from marine species and meals intended for cephalopod feeding. *Aquacul Int*, 20:71–89.
- Van Elswyk, M.E., B.M. Hargis, J.D. Williams, P.S. Hargis PS. 1994. Dietary Menhaden oil contributes to hepatic lipidosis in laying hens. *Poultry Sci*, 73:653–662.
- Van Elswyk, M.E., J.F. Prochaska, J.B. Carey, P.S Harris. 1992. Physiological parameters in response to dietary menhaden oil in molted hens. *Poultry Sci*, 71: 144.
- Van Elswyk, M.E. 1997. Nutritional and physiological effects of flax seed in diets for laying fowl. *Worlds Poult Sci J*, 53:253–264.
- Van Ruth, S., M. Alewijn, K. Rogers, E. Newton-Smith, N. Tena, M. Bollen, A. Koot. 2011. Authentication of organic and conventional eggs by carotenoid profiling. *Food Chem*, 126:1299–1305.
- Vasanth Rupasinghe, H.P., A. Yasmin. 2010. Inhibition of oxidation of aqueous emulsions of omega-3 fatty acids and fish oil by phloretin and phloridzin. *Molecules*, 15:251–257.
- Vázquez-Ortiz, F., G. Caire, I. Higuera-Ciapara, G. Hernández. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *J Liq Chrom*, 18:2059–2068.
- Verleyen, T., M. Forcades, R. Verhe, K. Dewettinck, A. Huyghebaert, W. De Greyt. 2002. Analysis of Free and Esterified Sterols in Vegetable Oils, *Ibid.* 79:117–122.
- Vezulli, L., C. Pruzzo, A. Huq, R. Colwell. 2010. Environmental reservoirs of *Vibrio cholera* and their role in cholera. *Environ Microbiol Reports*, 2:27–33.
- Vidotti, R.M., E.M. Viegas, D.J. Carneiro. 2003 Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. *Anim Feed Sci Technol*, 105:199–2.

- Vidussi, F., H. Claustré, J. Bustillos-Gúzman, C. Cailliau, J.C. Marty. 1996. Determination of chlorophylls and carotenoids of marine phytoplankton. Separation of chlorophyll a from divinyl chlorophyll a and zeaxanthin from lutein. *J Plankton Res.* 18: 237–282.
- Waldroup, P.M., L.I. Ndife, H.M. Helwing. 1986. Influence of probucol on egg yolk cholesterol content and performance of laying hens. *Poultry Sci.* 65:1949–1954.
- Wang, W.X., S. Onsanit, F. Dang. 2012. Dietary bioavailability of cadmium, inorganic mercury, and zinc to a marine fish: Effects of food composition and type. *Aquaculture.* 356:98–104.
- Wathelet, B. 1999. Nutritional analyses for proteins and amino acids in beans (*Phaseolus sp.*). *Biotechnol Agron Soc Environ.* 3:197-200.
- Weiss, J.F., R.M. Johnson, E.C. Naber. 1967. Effect of some dietary factor and drugs on cholesterol in the egg and plasma on the hen. *J Nutri.* 91:119–128.
- Weiss, J.F., E.C. Naber, R.M. Johnson. 1964. Effect of dietary fat and other factors on egg yolk cholesterol. I. The “cholesterol” content of egg yolk as influenced by dietary unsaturated fat and method of determination. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 105: 521-526.
- Welch, V.A., J.T. Borlak. 2008. Absorption and transport of dietary lipid. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* Ed. Chow CK. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. Pp. 562-589.
- Wheeler, S.C., M.T. Morrissey. 2003. Quantification and distribution of lipid, moisture, and fatty acids of West Coast albacore tuna (*Thunnus alalunga*). *J Aquat Food Prod T.* 12:3–16.
- Wohlt, J.E., J. Petro, G.M. Horton, R.L. Gilbreath, S.M. Tweed. 1994. Composition, preservation, and use of sea clam viscera as a protein supplement for growing pigs. *J Anim Sci.* 72:546-553.
- World Health Organization (WHO). 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. In *World Health Organization Technical Reports Series.* Vol. 916. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Wouters, R., P. Lavens, J. Nieto, P. Sorgeloos. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture.* 202:1–21.
- Xiao, L. 2010. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from marine products. Masters Dissertation, University of Bergen.
- Yamamoto, Y., K. Imose. 1989. Changes in fatty acid composition in sardines (*Sardinops melanosticta*) with cooking and refrigerated storage. *J Nutr Sci Vitaminol.* 35: 39.
- Yanar, Y., M. Celik. 2005. Note. Seasonal variations of fatty acid composition in wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* De Haan, 1844 and *Metapenaeus monoceros* Fabricus, 1789) from the Eastern Mediterranean Sea. *Food Sci Technol Int.* 11:391–395.
- Yang, Q., X. Zhou, Q. Zhou, B. Tan, S. Chi, X. Dong. 2009. Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. *Aquaculture Res.* 41:78-86.
- Yang, S., Q. Zhou, L. Yang, Y. Xue, J. Xu, C. Xue. 2015. Effect of Thermal Processing on Astaxanthin and Astaxanthin Esters in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J Oleo Sci.* 64:243–253.
- Yi, H., K.T. Hwang, J.M. Regenstein, S.W. Shin. 2014. Fatty acid composition and sensory characteristics of eggs obtained from hens fed flaxseed oil, dried whitebait and/or fructo-oligosaccharide. *Asian Australas J Anim Sci.* 27:1026–1034.

- Zar, J.H. 1984. Biostatistical analysis. 2da Edición Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. 679p.
- Zhang, X.G., A.M. Zhou, X.X. Lin, Y.Q. Chen, G.M. Yang. 2009. Comparative Study of Chemical Compositions of White Shrimp Head and Shell. *Mod Food Sci Technol*, 25:224–227.
- Zheng, H., H. Liu, W. Liu, Z. Sun, Q. Zhang. 2012. Changes of total carotenoid and lipid content in scallop tissues of *Chlamys nobilis* (Bivalve: Pectinidae) during gonad maturation. *Aquaculture*, 342:7–12.
- Zhong, W., S. Zhang, J. Li, W. Huang, A. Wang. 2011. Effects of dietary replacement of fish oil by conjugated linoleic acid on some meat quality traits of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Food Chem*, 127:1739–1743.
- Zhou, Q.C., C.C Li, C.W. Liu, S.Y. Chi, Q.H. Yang. 2007. Effects of dietary lipid sources on growth and fatty acid composition of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult Nutr*, 13:222–229.
- Zielinski, S., H.O. Pörtner. 2000. Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age? *Comp Biochem Phys B*, 125:147–160.

11. ANEXOS

Tabla XXXVIII. Contenido de lípidos en muestras de origen marino analizadas por dos métodos.

Especie	Contenido lípidos		Tejido
	EE	LT	
Vísceras de almejas y otros bivalvos			
<i>Argopecten purpuratuk</i> ¹		19.1	Gónada femenina
		28.8	Glándula digestiva
<i>Clamys nobilis</i> ²		13.0	Gónada
		0.4	Manto
<i>Mactra violacea</i> ³	1.5-9.5		Mezcla de tejidos
<i>Nodipecten subnodosus</i> ⁴		13-24	Glándula digestiva
		25-45	Gónada
No especificada ⁵	3.5		Vísceras mezcladas
<i>Pecten maximus</i> ⁶		24-55	Glándula digestiva
<i>Pinctada margaritifera</i> ⁷		16.0	Gónada femenina
<i>Placopecten magellanicus</i> ^{8,9}		5.9	Mezcla de tejidos
		13.6	Glándula digestiva
		5.2	Gónada femenina
<i>Spisula solidissima</i> ¹⁰	1.3		Vísceras mezcladas
<i>Pinna rugosa</i> ⁴⁸	6.4	7.4	Vísceras mezcladas
Vísceras de calamar y otros cefalópodos			
<i>Architeuthis sp.</i> ¹¹		55.0	Glándula digestiva
		31.7	Gónada
<i>Berryteuthis anonychus</i> ¹²		20-36	Glándula digestiva
<i>Berryteuthis magister</i> ¹³		56.9	Hígado
<i>Dosidicus gigas</i> ^{14, 48}	8.4		Vísceras mezcladas
	3.7		Cabezas
	18.5	20.4	Vísceras mezcladas
<i>Gonatus antarcticus</i> ¹⁵		54.3	Glándula digestiva
<i>Loligo pealei</i> ¹⁶		5.6-7.6	Mezcla de tejidos
<i>Loligo vulgaris</i> ¹¹		10.9	Gónada
		9.9	Glándula digestiva
<i>Moroteuthis ingens</i> ¹⁷		27-41	Glándula digestiva
<i>Moroteuthis robsoni</i> ¹⁸		22.3	Glándula digestiva
No especificada ⁴⁴	7.4		Vísceras mezcladas
<i>Octopus vulgaris</i> ¹⁹	5.2-8.7		Glándula digestiva
	4.8-7.1		Gónada
<i>Sepia elegans</i> ¹¹		4.9	Gónada
		19.5	Glándula digestiva
<i>Sepia officinales</i> ²⁰		30-34	Glándula digestiva
		13-18	Gónada femenina
Cabezas de camarón y otros crustáceos			
<i>Aristeus antennatus</i> ²¹		41-51	Hepatopáncreas
<i>Euphausia superba</i> ²²	6-17		Organismo entero
<i>Farfantepenaeus paulensis</i> ²³	4.8	4.9	Cabezas
<i>Litopenaeus vannamei</i> ^{24, 25, 48}	12.6		Cabezas
	11.2		Cabezas
	4.5	9.1	

<i>Pandalus borealis</i> ²⁶		2.9	Cabezas
<i>Penaeus aztecus</i> ²⁷	6.1		Cabezas
<i>Penaeus esculentus</i> ²⁸		19-25	Glándula digestiva
<i>Penaeus monodon</i> ²⁹	10.1		Cabezas
<i>Penaeus indicus</i> ³⁰		9.1	Cabezas
<i>Pleuroncodes planipes</i> ³¹		2-14	Organismo entero
<i>Trachypena curvirostris</i> ²⁶		3.3	Cabezas
Peces			
<i>Clupea harengus</i> ^{32,33}	9.6		Mezcla de vísceras
	25.8		Piel, huesos y vísceras
	39.5		Cabezas
	15.5		Gónadas
<i>Gadus morhua</i> ³⁴	17.2		Vísceras
<i>Micromesistius poutassou</i> ³⁵	11.3		Organismo entero
<i>Oncorhynchus nerka</i> ³⁶	47.7		Cabezas
<i>Salmo salar</i> ³⁷		62.1	Cabezas
<i>Sardina pilchardus</i> ³⁸		18.5	Vísceras
<i>Sardinella aurita</i> ³⁹	6.3		Cabezas y vísceras
<i>Sardinella lemuru</i> ⁴⁰		22.8	Cabezas
		29.8	Hígado
<i>Scomber australasicus</i> ⁴¹	9.7		Organismo entero
<i>Scomber japonicus</i> ^{41, 45, 46, 48}	44.6		Organismo entero
	47.5		Organismo entero
		7.5-23.6	Organismo entero
	14.5	11.7	Organismo entero
<i>Scomber scombrus</i> ⁴¹	39.2		Organismo entero
<i>Thunnus albacares</i> ^{42,43,47}	16.8		Vísceras
		32.9	Vísceras
		16.4	Cabezas
	5.8		Vísceras

Literatura citada: ¹Caers et al. (1999); ²Zheng et al. (2012); ³Laxmilatha (2009); ⁴Racotta et al. (2003); ⁵Myer et al. (1988); ⁶Pazos et al. (2003); ⁷Ehteshami et al. (2011); ⁸Milke et al. (2004); ⁹Napolitano y Ackman (1992); ¹⁰Wohlt et al. (1994); ¹¹Rosa et al. (2005); ¹²Hayashi y Bower (2004); ¹³Hayashi y Kishimura (2002); ¹⁴Martínez-Vega et al. (2000); ¹⁵Phillips et al. (2002); ¹⁶Lian et al. (2005); ¹⁷Phillips et al. (2001); ¹⁸Phillips et al. (2002); ¹⁹Valverde et al. (2012); ²⁰Blanchier y Boucaud-Camou (1984); ²¹Rosa y Nunes (2003); ²²Clarke (1980); ²³Sánchez-Camargo et al., 2011; ²⁴Cao et al., 2009; ²⁵Zhang et al. 2009; ²⁶Heu et al. 2003; ²⁷Franco-Zavaleta (2010); ²⁸Chandumpai et al. (1991); ²⁹Narayan et al. (2010); ³⁰Ravichandran et al. (2009); ³¹Spinelli et al. (1974); ³²Aidos et al. (2002); ³³Sathivel et al. (2003); ³⁴Shahidi et al. (1991); ³⁵De Lurdes et al. (1998); ³⁶Sathivel et al. (2005); ³⁷Gbogouri et al. (2004); ³⁸Dumay et al. (2006); ³⁹Souissi et al. (2007); ⁴⁰Khoddami et al. (2009); ⁴¹Bae et al. (2011); ⁴²Ovissipour et al. (2012); ⁴³Nguyen et al. (2011); ⁴⁴Carver et al. (1989); ⁴⁵Oduro et al. (2011); ⁴⁶Jahncke y Gooch (1997); ⁴⁷Hernández et al. (2004); ⁴⁸Presente trabajo.

Tabla XXXIX. Composición de ingrediente fabricados a partir de subproductos.

Producto	Materia prima y/o características	Proteína cruda	Extracto etéreo
Subproductos de almeja			
Harina ^{1, 2, 18, 19}	Músculos cocidos (100°C/20 min) y secados (55°C), especie no especificada	84.2%	2.4%
	Vísceras de <i>A. ventricosus</i> cocidas (100°C/10 min) y secada (60°C/24 h)	50.2%	14.5%
	Vísceras de <i>A. maura</i> cocidas (100°C/10 min) y secadas (60°C/24 h)	53.9%	10.1%
	Vísceras de <i>P. rugosa</i> cocidas (100°C/10 min) y secadas (60°C/24 h)	49.9%	6.7%
	Vísceras de <i>P. rugosa</i> secadas (60°C/24 h)	52.7%	8.2%
Ensilado ^{3,4,5}	Vísceras de <i>Aequipecten gibbus</i>	85.0%	2.5%
	Vísceras de <i>S. solidissima</i> (56%) con maíz molido (44%)	19.4%	4.3%
	Vísceras de <i>Mizuhopecten yessoensis</i> (40%) con pasta de soya (60%)	51.9%	7.2%
Subproductos de calamar			
Ensilado ⁶	Vísceras (50%) con pasta de soya (50%)	46.3%	10.4%
Coextruido ⁷	Vísceras (46%) con pasta de soya (54%); temperatura de procesamiento: 160°C	54.7%	0.7%
Harina ^{8, 9, 19}	Vísceras	34.5%	17.0%
	Manto	80.5%	4.0%
	Hígado	50.8%	17.2%
	Vísceras de <i>D. gigas</i> cocidas (100°C/10 min) y secadas (60°C/24 h)	52.7%	15.4%
	Vísceras de <i>D. gigas</i> secadas (60°C/24 h)	52.1%	23.5%
Subproductos de camarón			
Harina ^{10,11,12,13,19}	Cabezas de <i>F. merguensis</i> cocidas (100°C/20 min) y secadas (55°C)	58.3%	4.9%
	Cabezas de <i>Penaeus</i> sp.	50.6%	8.8%
	Cabezas de <i>Penaeus</i> sp. cocidas (95°C/10 min) y secadas (75°C/5 h)	50.2%	6.6%
	Ensilado de cabezas de <i>P. kerathurus</i> secado (60°C/48 h)	65.9%	4.0%
	Cabezas de <i>F. californiensis</i> cocidas (100°C/10 min) y secadas (60°C/24 h)	53.5%	4.8%
	Cabezas de <i>F. californiensis</i> secadas (60°C/24 h)	59.4%	5.0%
Hidrolizado ^{14,15}	Cabezas de <i>L. vannamei</i>	46.7%	
	Cabezas de <i>P. Semisulcatus</i>	81.5%	
Macarela			
Harina ^{16,17,19}	<i>S. Scombrus</i> entera, producción comercial	65.6%	13.6%
	<i>S. japonicus</i> entera secada (60°C/24 h)	30.7%	2.0%

<i>S. japonicus</i> entera cocida (100°C/10 min) y secada (60°C/24 h)	47.4%	11.8%
<i>S. japonicus</i> entera secada (60°C/24 h)	52.5%	16.0%

Composición: PC= proteína cruda y EE= extracto etéreo; Literatura citada: ¹Sudaryono *et al.* (1995); ²Reyes-Becerra (2011); ³Myer *et al.* (1990); ⁴Wohlt *et al.* (1994); ⁵Kader *et al.* (2011); ⁶Kader *et al.* (2012); ⁷Carver *et al.* (1989); ⁸Mai *et al.* (2006); ⁹Hertrampf y Piedad-Pascual (2000); ¹⁰Sudaryono *et al.* (1995); ¹¹Carranco *et al.* (2003); ¹²Andrade *et al.* (2007); ¹³Nwanna (2003); ¹⁴Bueno-Solano *et al.* (2009); ¹⁵Mizani *et al.* (2005); ¹⁶Anderson *et al.* (1997); ¹⁷Acosta-Ruiz *et al.* (2011); ¹⁸Navarro *et al.* (2013); ¹⁹Presente trabajo.

Cartel presentado en el congreso Aquaculture America 2014.



USE OF MARINE BY-PRODUCT MEALS FOR REPLACEMENT OF FISHMEAL IN FEED FOR SHRIMP *Litopenaeus vannamei*

Eduardo A. Toyas-Vargas, Elena Palacios and Roberto Civera*



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE

Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, Baja California Sur, México.

*rcivera04@cibnor.mx



INTRODUCTION.

- Fishmeal (FM) is an expensive protein ingredient in commercial shrimp feed.
- Several terrestrial protein sources have been tested as FM substitutes, however, these lack highly unsaturated fatty acids (HUFA) and the appropriate amino acid balance that affects not only growth and survival of shrimp, but also its final quality for consumers.
- Marine by-products may account for 50% of the raw material, are generally discarded, contain essential nutrients and can be obtained at low cost, thus could reduce the costs of feed compared to FM. They can also be used to replace fish oil in feed.
- Raw fish for FM production are usually cooked, hence their nutrient content can undergo degradation of lipids and other molecules, reducing the final quality of feed.

In an attempt to reduce oxidation of nutrients, two meal preparation methods were tested: 1) Cooking and 2) Direct drying. By-product meals obtained were then used in shrimp feeds to replace FM.

MATERIALS AND METHODS.



By-products tested were viscera (gut, digestive gland, gonad, and gills) from penshell (*Atrina mauro*), viscera (gut, digestive gland, gonad, eyes, liver and nervous system) from squid (*Dosidicus gigas*), and whole mackerel (*Scomber japonicus*).

By-product meals preparation was done as shown in the diagram:



Composition of meals obtained were analyzed (Table 1), and then included at 32% into shrimp feed, totally replacing FM and fish oil in the feed.

Eight diets were tested in a growth trail (Table 2):

- 1 control diet (sardine meal).
- 1 commercial feed (35% protein).
- 6 experimental diets (containing 3 by-products, cooked or dried).

Growth trail:

- 45-days trail with juvenile shrimp *L. vannamei* (0.3 g mean initial weight)
- 7 replicates per treatment, 10 shrimp/tank.
- Culture conditions: 60-L indoor tanks, 27-28°C, 39‰ and >5 mg/L dissolved oxygen.



RESULTS.

Table 1. Chemical composition (%) of by-products meals prepared by cooking (CM) or direct drying (DM). Asterisk indicates differences due to preparation process in each by-product (P<0.05)

	Penshell viscera		Squid viscera		Whole mackerel	
	CM	DM	CM	DM	CM	DM
Crude protein	49.9	71.4*	52.7	51.9	50.8	56.3*
Ether extract	8.8	7.1*	16.6	25.4*	12.6	17.1*
ARA	4.5	4.6	4.5	3.8*	2.4	3.6*
HUFA ¹ EPA	16.3	17.9*	18.3	17.3*	6.9	7.7*
DHA	19.2	20.5*	24.3	22.5	15.5	19.1*
Total pigments	1.4	1.9*	1.6	2.1*	0.09	0.11

¹Percentage of total fatty acids.

Table 2. Performance of *L. vannamei* fed diets containing different by-product meals (CM or DM). Means with different letters are significantly different (P<0.05)

	Control diet	Commercial diet	Penshell viscera		Squid viscera		Whole mackerel	
			CM	DM	CM	DM	CM	DM
FEED								
Protein (%)	32.4	36.3	35.0	26.7	34.6	31.9	39.6	37.5
Ether extract (%)	5.4	7.7	4.8	4.5	7.9	8.5	5.7	7.0
Survival (%)	96.7 ^a	77.5 ^b	98.6 ^a	97.1 ^a	95.7 ^a	95.7 ^a	92.9 ^a	98.5 ^a
PERFORMANCE								
Final weight (g)	3.4 ^a	3.3 ^a	5.7 ^b	3.8 ^d	6.6 ^a	5.1 ^{bc}	4.6 ^{cd}	5.7 ^b
Growth rate (%)	951 ^a	937 ^a	1,666 ^{ab}	1,158 ^d	1,908 ^a	1,476 ^{bc}	1,293 ^{cd}	1,706 ^{ab}
Feed intake ¹	0.11 ^d	0.09 ^d	0.17 ^c	0.15 ^c	0.22 ^{ab}	0.21 ^b	0.15 ^c	0.25 ^a
FCR ²	1.6 ^{bc}	1.3 ^c	1.4 ^c	1.9 ^{ab}	1.6 ^{bc}	2.0 ^a	1.5 ^c	2.1 ^a
PER ³	1.9 ^{ab}	2.1 ^a	2.0 ^{ab}	1.9 ^{ab}	1.8 ^c	1.6 ^c	1.7 ^c	1.3 ^d

¹Apparent feed intake (g/shrimp/day); ²Feed conversion ratio; ³Protein efficiency ratio.

CONCLUSIONS

- Cooking had negative effects on the composition of whole mackerel meal.
- Mackerel DM diet had better final weight, growth rate and FCR compared to mackerel CM diet.
- Diets containing cooked viscera meals (penshell and squid) showed better final weight, growth rate and FCR compared to same diets containing dried by-products meals.
- Fishmeal and possibly fish oil can be replaced with marine by-product meals, as squid and penshell viscera.

ACKNOWLEDGMENTS. This study was conducted with support of FINNOVA 2011 03 173655 and SEP-CONACYT 156118 projects. The authors are grateful to CONACYT for the scholarship granted to E. Toyas, to CIBNOR's Postgraduate Program for the support provided to attend this meeting, as well as to all the people who helped during this research at CIBNOR.