UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Lixiviación de proteínas en alimento balanceado para camarón blanco (Litopenaeus vannamei) a diferentes salinidades.

CHAMBA PONCE KEVIN BRYAN
INGENIERO ACUICOLA

MACHALA
2022

UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

Lixiviación de proteínas en alimento balanceado para camarón blanco (Litopenaeus vannamei) a diferentes salinidades.

CHAMBA PONCE KEVIN BRYAN
INGENIERO ACUICOLA

MACHALA
2022

UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Lixiviación de proteínas en alimento balanceado para camarón blanco (Litopenaeus vannamei) a diferentes salinidades.

CHAMBA PONCE KEVIN BRYAN
INGENIERO ACUICOLA

SANTACRUZ REYES ROBERTO ADRIAN

MACHALA
2022

tesisfinal_Chamba

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%	3%	1%	1%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	repositorio.chapingo.edu.mx:8080 Fuente de Internet	<1%
3	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1%
4	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	<1%
5	Alex Olivera D, Emilio Aranda I, Jesus Ramos J, Luis Vargas V, Juan Zaldivar C, German Mendoza M. "Evaluation of the nutritive value of sugarcane residues inoculated with fungus Fomes sp", Revista MVZ Córdoba, 2014 Publicación	<1%
6	es.scribd.com Fuente de Internet	<1%
7	issuu.com Fuente de Internet	<1%

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, CHAMBA PONCE KEVIN BRYAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Lixiviación de proteínas en alimento balanceado para camarón blanco (Litopenaeus vannamei) a diferentes salinidades., otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

CHAMBA PONCE KEVIN BRYAN

0705514107

AGRADECIMIENTO

Primero, agradezco a Dios por brindarme salud y bienestar para conseguir todos mis objetivos propuestos y poder derribar cada obstáculo en mi vida.

A mis padres y hermanos por la ayuda brindada durante este trayecto porque han sido mi pilar fundamental para alcanzar mis metas y así desenvolverme en mi carrera profesional.

Además, a la Universidad Técnica de Machala por la oportunidad de estudiar y desempeñarme como profesional, junto con docentes que me proporcionaron conocimientos, ya que han sido el motor primordial para esta travesía porque al final conseguiré mi mayor logro que es tener mi título.

A mi tutor Santacruz Reyes Roberto Adrián, Ph.D. por estar pendiente en la revisión del trabajo de titulación, y así ayudarme a resolver cada objetivo planteado dentro de las actividades académicas, así mismo al Ing. Carlos Pezo por su guía y prestación del laboratorio de química y por último al Ing. Irán Rodríguez, Ph.D. por su guía en el área estadística.

DEDICATORIA

El trabajo de titulación está dedicado ante todo a Dios, ya que con su sabiduría me ha facilitado habilidades, conocimientos que he desarrollado en mi etapa universitaria.

Así mismo, dedico mi trabajo a mis padres por haberme forjado como persona de bien, enseñándome los principales valores que se poseen en el hogar, y a la vez mantener intacta la confianza que han sobrellevando en mí, que a pesar que existieron momentos altos y bajos he podido culminar mi etapa universitaria.

RESUMEN

La producción de camarón blanco depende de la calidad de agua al igual que la dieta balanceada proporcionada. Estos alimentos sufren una pérdida de proteínas, llamada lixiviación, de manera que traerá consigo consecuencias negativas en la producción. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de manera combinada e individual de la salinidad y tiempo de inmersión en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial para *Litopenaeus vannamei.* Se realizó un experimento factorial completamente al azar fraccionado en 3x4, con tres concentraciones de salinidad (0‰, 15‰, 30‰), 4 tiempos de inmersión (30 min, 60 min, 120 min, 360 min), donde se sumergió 4 gr de alimento balanceado de 32% proteína en cada unidad experimental llevada a 1 lt de agua de las diferentes salinidades y tiempos, formando así 12 combinaciones de tratamientos, mismos que se replicaron 3 veces, en un entorno experimental homogéneo, para luego obtener el porcentaje de contenido de proteína en el pellet mediante el método Kjeldahl. Los resultados demostraron que individualmente a una salinidad de 30 ppt ocurre mayor lixiviación con 27,36 % de proteína (14,5% lixiviado) que en agua dulce con 31,17% de proteína (2,60% lixiviado). En cuanto al tiempo de inmersión en agua a 30 ppt a los 30, 60 y 120 minutos hubo lixiviación promedio de 15,8%, luego a los 360 min hubo lixiviación de 10,3% especulando que se debe por descomposición bacteriana presente en las muestras de alimento balanceado. Al no presentar efectos de interacción entre cada factor de estudio se evaluó el mejor efecto combinado siendo 30 ppt a 60 minutos la combinación con mayor lixiviación, teniendo 26,83% de proteína (16,15% lixiviado), mientras que 0 ppt a 30 min contuvo 31,98% de proteína (0,063 porcentaje lixiviado). Concluyendo que la salinidad influye en la pérdida de proteínas sin consecuencias negativas ya que funciona esta pérdida como atractante al organismo. En cuanto al tiempo de inmersión, se demostró que existe casi igual al perder 15,8%. Por otra parte, en cuanto a salinidad-tiempo se demostró que en agua de baja salinidad se lixivia menos proteína.

Palabras claves: Lixiviación, proteína, salinidad, tiempo inmersión, camarón.

ABSTRACT

White shrimp production depends on water quality as well as the balanced diet provided. These foods suffer a loss of protein, called leaching, in such a way that it will bring with it negative consequences in production. The objective of this work was to evaluate the combined and individual effect of salinity and immersion time on protein leaching of a commercial balanced feed for Litopenaeus vannamei. A completely random factorial experiment divided into 3x4 was carried out, with three salinity concentrations (0‰, 15‰, 30‰), 4 immersion times (30 min, 60 min, 120 min, 360 min), where 4 g of balanced feed of 32% protein in each experimental unit taken to 1 liter of water of different salinities and times, thus forming 12 combinations of treatments, which were replicated 3 times, in a homogeneous experimental environment, to then obtain the percentage of protein content in the pellet by the Kjeldahl method. The results showed that individually at a salinity of 30 ppt, greater leaching occurs with 27.36% protein (14.5% leached) than in fresh water with 31.17% protein (2.60% leached). Regarding the immersion time in water at 30 ppt, at 30, 60 and 120 minutes there was an average leaching of 15.8%, then at 360 min there was leaching of 10.3%, speculating that it is due to the decomposition of bacteria present in the water. balanced feed samples. As there were no interaction effects between each study factor, the best combined effect was evaluated, being 30 ppt at 60 minutes the combination with the highest leaching, having 26.83% protein (16.15% leached), while 0 ppt at 30 min contained 31.98% protein (0.063 percent leached). Concluding that salinity influences protein loss without negative consequences since this loss works as an attractant to the organism. Regarding the immersion time, it was shown that there is almost the same losing 15.8%. On the other hand, in terms of salinity-time, it was shown that less protein is leached in low-salinity water.

Keywords: Leaching, protein, salinity, immersion time, shrimp.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Pág.

AGRADECIMIENTO I
DEDICATORIA II
RESUMEN III
ABSTRACT IV
ÍNDICE DE CONTENIDO V
ÍNDICE DE FIGURAS VII
ÍNDICE DE TABLAS VIII
1. INTRODUCCIÓN 9
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 10
3. JUSTIFICACIÓN 11
4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN 12
4.1.1. Objetivo general 12
4.1.2. Objetivos específicos 12
5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 13
5.1. Reseña histórica de la producción camaronera en Ecuador 13
5.2. Generalidades de *Litopenaeus vannamei.* 13
5.3. Detección del alimento 14
5.4. Calidad de agua en acuicultura 15
5.4.1. Salinidad del agua 15
5.4.2. Relación salinidad-pH 15
5.4.3. Relación salinidad-nitrógeno 16
5.4.4. Relación salinidad-oxígeno disuelto 16
5.5. Requerimientos Nutricionales de *Litopenaeus vannamei* 16
5.6. Requerimiento de proteínas 17
5.7. Propiedades del pellet 17
5.8. Lixiviación 18
5.9. Lixiviación del alimento peletizado de uso en acuicultura 18
5.10. Factores que afectan al alimento balanceado en el agua 19
5.10.1. Ingredientes 19
5.10.2. Procesamiento 19
5.10.3. Aglutinantes 19
6. MATERIALES Y MÉTODOS 20

6.1. Materiales y Equipos 20
6.1.1. Materiales 20
6.1.2. Equipos 20
6.1.3. Reactivos 20
6.2. Ubicación de área experimental 22
6.2.1. Lugar de estudio 22
6.3. Diseño Experimental 22
6.3.1. Modelo Matemático 23
6.4. Manejo del Ensayo 24
6.4.1. Preparación de agua de mar filtrada 24
6.4.2. Preparación de unidades experimentales 24
6.4.3. Muestras de alimento balanceado 25
6.4.4. Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteína en alimentos para animales 25
6.5. Variables a medir 25
6.5.1. Variables independientes: 25
6.5.2. Variable dependiente: 25
6.6. Procesamiento estadístico 26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27
7.1. Efecto de la salinidad en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial 27
7.2. Efecto del tiempo de inmersión en salinidad a 30 ppt en la lixiviación de proteínas en alimento balanceado comercial 29
7.3. Efecto de salinidad-tiempo en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial 31
8. CONCLUSIÓN 34
9. RECOMENDACIONES 35
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 36
11. ANEXOS 42
Método Kjeldahl 48
Etapa de digestión 48
Etapa de destilación 48
Etapa de valoración 49
Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteína en alimentos para animales 50

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Ubicación del lugar donde se realizó el experimento. 22
Figura 2. Croquis del Experimento Factorial Completamente al Azar. 23
Figura 3. Efecto de la salinidad en la concentración y lixiviación de proteínas de un alimento balanceado a 3 concentraciones diferentes de salinidad. 28
Figura 4.Efecto de tiempo de inmersión en la concentración y lixiviación de proteínas de un alimento balanceado a 30 ppt de salinidad. 30
Figura 5. Efecto de Factor combinado en la concentración y lixiviación de proteínas de un alimento balanceado. 33
Figura 6. Preparación de agua. 46
Figura 7. Unidades experimentales con factor de estudio. 46
Figura 8. Colocación de muestras para proceso de digestión. 46
Figura 9. Medición de masa en balanza de precisión. 46
Figura 10. Muestras de pellets. 46
Figura 11. Proceso de destilación. 46

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Prueba de efectos inter-sujetos para la variable salinidad en el contenido de proteínas. 27

Tabla 2. Prueba de efectos inter-sujetos para la variable tiempo de inmersión en la concentración de proteínas en salinidad de 30 ppt. 29

Tabla 3. Prueba de efectos inter-sujetos para la variable salinidad-tiempo en la concentración de proteínas. 32

Tabla 4. Prueba de efectos inter-sujetos para Factor combinado en la concentración de proteínas. *32*

1. INTRODUCCIÓN

Litopenaeus vannamei es el principal producto de exportación en Ecuador y más importante a nivel de otros países con una ventaja frente a otros competidores resaltando su calidad, sabor y crecimiento, siendo las condiciones ambientales que posee el territorio ecuatoriano un factor importante e influyente en el cultivo.

Se debe realizar un buen manejo en las diferentes etapas hasta su cosecha, en este caso, un buen plan de alimentación y nutrición es fundamental para el desarrollo de la especie independientemente del tipo de sistema de producción que se realice, generalmente se usa alimento artificial considerando a éste un 60% en el costo de producción.

No obstante, una incorrecta alimentación o carencia de necesidades nutricionales del alimento balanceado a nuestra especie crustácea y características como la atractibilidad al animal, palatabilidad, tamaño, hidroestabilidad o pérdida de proteínas ocasiona problemas en la calidad de agua, problemas económicos por el aumento de los costos, aumento de susceptibilidad a enfermedades o pérdida total de la producción.

Esta especie llega a tolerar diferentes rangos de concentración de sales, teniendo en cuenta que las condiciones ambientales aumentan o disminuyen en determinadas horas teniendo los más importantes al oxígeno disuelto, temperatura, turbidez, contenido de nitrógeno, salinidad, entre otros, al mismo tiempo provoca una lixiviación del pellet que conduce a una malformación física, disolución o destrucción del mismo y simultáneamente a la pérdida de proteínas.

Lograr que físicamente el pellet sufra poca desintegración y pérdida de nutrientes inmerso al agua no es sencillo ya que necesitan alto grado de gelatinización de almidones y considerando que el camarón es una especie bentónica con necesidad de roer el alimento y teniendo lentos hábitos para alimentarse antes de ingerirlo es de suma importancia conocer cuánta proteína está consumiendo el animal en determinadas horas, por esta razón el objetivo de este trabajo es de valorar el porcentaje de proteína que permanece en el pellet de un alimento balanceado para camarón blanco al ser expuestos a diferentes concentraciones de sales y en diferentes intervalos de tiempo.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción en Ecuador es uno de los rubros económicos principales, es por esto que la técnica, procesos e insumos deben mejorar para abastecer las necesidades comerciales de exportación.

Un alimento balanceado es clave para una correcta nutrición en una producción de cultivo de camarón blanco, es así que ciertas características aparte del contenido nutricional del alimento deben ser adecuadas para mantener su estructura tanto física como química durante un determinado tiempo al momento de distribuirlo en el estanque acuícola, en contra parte, al no suceder esto o al pasar horas, el pellet comienza a disminuir la capacidad de contener la proteína, fenómeno llamado “lixiviación” por lo que generan una eutrofización al estanque, pobre crecimiento de la especie, ineficiente conversión alimenticia y baja tasa de supervivencia.

3. JUSTIFICACIÓN

En la producción acuícola, la calidad del balanceado debe contar con un porcentaje de proteínas aprovechables para el crecimiento de los animales, en vista de esto a la hora de adquirir el alimento se debe tener en cuenta el contenido de proteína que posee, igualmente que contengan otras características que genere una aceptación del camarón a pesar de que su fórmula es distinta de acuerdo a estadíos en su ciclo de vida, o marcas comerciales. Adicionalmente, es el principal constituyente en el organismo después del agua, de manera que una pérdida de proteínas por el tiempo expuesto en agua del estanque al no ser consumido por el animal causaría deterioro a la calidad de ella y al mismo tiempo pérdidas económicas al productor.

La presente experimentación es importante ya que se obtendrán datos sobre la pérdida de proteína en pellets del alimento balanceado para camarón blanco expuestos a 3 diferentes concentraciones de sales en 4 intervalos de tiempo, esto debido que el alimento entregado es consumido a *posteiori.*

4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto combinado e individual de la salinidad y el tiempo de inmersión en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial para *Litopenaeus vannamei*.

4.1.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la interacción salinidad y tiempo de inmersión en la tasa de lixiviación de proteínas de alimento balanceado para camarón blanco.
- Determinar la salinidad y su impacto en la lixiviación de proteína en alimento balanceado para camarón blanco.
- Demostrar la influencia de los diferentes tiempos de inmersión en el agua para la lixiviación de proteínas en alimento balanceado.

5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

5.1. Reseña histórica de la producción camaronera en Ecuador

En el año 1968 empresarios locales tomaron la iniciativa de producir y criar camarones en estuarios, considerando las condiciones climáticas y el potencial que sobresale para el crecimiento del camarón, dado así, en 1974 aquellos empresarios ya tenían alrededor de 600 hectáreas solo para la actividad camaronera (Saltos, 2020).

El cultivo de camarón es una actividad exitosa, por lo que en el año 90 pasó de una actividad artesanal a una industrial, por ejemplo, empezaron a estructurar empresas más elaboradas, incluyeron laboratorios, empacadora, finalmente añadieron lugares para la venta de insumo. (Scott, 2015, como se citó en Muñoz, 2017). Este sector marca un precedente de suma importancia para el crecimiento y aporte de la economía en Ecuador (Gonzabay et al., 2021).

5.2. Generalidades de *Litopenaeus vannamei.*

Litopenaeus vannamei posee interés productivo a nivel mundial debido a su facilidad de adaptación en diferentes salinidades y resistencia a condiciones hostiles (Valencia-Castañeda et al., 2018). Cultivar en bajas salinidades ha tenido ventajas como mayor bioseguridad, control de enfermedades, mejor sabor, mejor uso de suelo y agua, menor impacto al medio ambiente (Chia Navia, 2018). Las densidades son un factor a tener en cuenta ya que puede generarse conductas agresivas, territoriales o canibalismo al tener muchos organismos (Esparza-Leal et al., 2020). En efecto, varias propuestas de alimentación han surgido para optimizar el uso del alimento como usar bandejas, alimentadores automáticos, suplementos alimenticios o modificar la composición del alimento (Gamboa-Delgado et al., 2020).

La clasificación taxonómica del *Litopenaeus vannamei* es la siguiente:

Reino:	*Animalia*
Filo:	*Arthropoda*
Clase:	*Malacostraca (Latreille, 1806)*
Orden:	*Decapoda (Latreille, 1803)*
Familia:	*Penaeidae (Rafinesque, 1815)*
Género:	*Litopenaeus (Pérez-Farfante y Kensley, 1997)*
Especie:	*Litopenaeus vannamei (Boone, 1931)*

5.3. Detección del alimento

Independientemente de la concentración de sal, los crustáceos consumen en su hábitat natural microalgas, macroalgas y tejidos de plantas (Poore et al., 2017). Los camarones peneidos carecen de buen sentido de la vista, es así que requieren de otros sistemas para reconocer su hábitat como el tacto que son quimiorreceptores ubicados en los flagelos antenales con el fin de encontrar el alimento y distinguirlo entre textura de blando o duro, todo este proceso es llamado “atractabilidad” (Pereira da Silva & Pezzato, 2000, como se citó en Hattori et al., 2021). El sentido del gusto, que poseen en las quelas de los pleópodos, maxilópodos y su región bucal por quimiorreceptores son encargados de seleccionar el alimento al ser ingerido (palatabilidad), y el sentido olfatorio localizados en las anténulas (Villarreal-Cavazos et al., 2017).

Un crustáceo posee “estetascos” encontrados en el flagelo lateral de las anténulas, que son quimiorreceptores los cuales buscan y reconocen el alimento con ayuda de movimientos se incrementa la exposición de los estetascos a los químicos en el cuerpo de agua. Otro quimiorreceptor se encuentra en las partes bucales quienes son receptores de contacto, es así que el organismo puede aceptar o rechazar el alimento (Martinez, 1987). Actualmente se ha determinado que es activo acústicamente emitiendo un sonido en el proceso de alimentación que se genera al momento de cerrar sus mandíbulas y chocar entre sí por la trituración del pellet (Silva et al., 2019).

5.4. Calidad de agua en acuicultura

Una buena producción acuícola está influenciada por su calidad de agua ya que es la composición de parámetros físicos, químicos y biológicos, teniendo algunos parámetros no controlables como el clima, tiempo, además que muchos otros factores pueden alterar ciertos parámetros causando muerte en la producción, tanto así que los parámetros a considerar en acuacultura son la concentración de oxígeno disuelto y dióxido de carbono en el agua, temperatura, pH, concentración de amonio no ionizado, alcalinidad y dureza del agua y salinidad del agua (Meyer, 2004). Los parámetros con mayor impacto y a tomar en cuenta diariamente son temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH (Carbajal-Hernández et al., 2017).

5.4.1. Salinidad del agua

Este parámetro es la concentración de siete iones disueltos en el agua los cuales son Sodio, Magnesio, Calcio, Potasio, Cloruro, Sulfato, Bicarbonato, medidos en partes por mil (ppt) (Boyd & Tucker, 1998). El salinómetro óptico es un equipo que permite tomar la salinidad, aquel es útil y sencillo de emplear en el campo, por eso con la ayuda de aquel dispositivo la lectura de salinidad se refleja en poco tiempo (Meyer, 2004).

Un efecto indirecto en los camarones es la salinidad ya que por este parámetro se ve afectada el oxígeno soluble en el cuerpo de agua y su disponibilidad. Es necesario recalcar que una cría de camarón en el transcurso de la etapa de salinidad altas se debe hacer recambios de agua (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2019).

Indonesia usó un sistema de recirculación cerrado para permitir mejor calidad de agua a baja salinidad con altas densidades donde los resultados muestran que se puede llegar a obtener una comunidad estable de bacterias y alto crecimiento de hasta 5.20 kg en metro cúbico en 84 días de cultivos (Suantika et al., 2018). Tener en cuenta además que los sólidos sedimentados y sólidos suspendidos totales aumentan la densidad de bioflocs por efecto de la salinidad, especialmente a salinidades de 32 ppt (Khanjani et al., 2020).

5.4.2. Relación salinidad-pH

Tanto crustáceos como peces toleran un pH más bajo cuando la concentración de sal del medio externo es casi óptima para la especie (Boyd & Tucker, 1998). Un rango óptimo

establecido para la especie *L. vannamei* es entre 6 y 9, fuera de estos rangos existen efectos letales por lo que la medición se recomienda diariamente (Paredes & Rodríguez, 2020).

5.4.3. Relación salinidad-nitrógeno

Las proporciones presentes de amonio ionizado y no-ionizado dependen del pH, temperatura y en menor medida de la salinidad (Boyd & Tucker, 1998). Dada una concentración de TAN, la concentración de NH_3 aumenta a medida que sube el pH, temperatura y disminuye la salinidad (Bower & Bidwell, 1978). Además, la salinidad posee la capacidad de reducir las tasas de eliminación de nitratos en sistemas acuáticos naturales y concentraciones superiores a 10 ppt suprimen la desnitrificación heterótrofa (von Ahnen et al., 2019). Así mismo, la nitrificación produce baja acumulación de sólidos al igual que la demanda de oxígeno, pero consume carbonato y nitrato (Fleckenstein et al., 2020).

5.4.4. Relación salinidad-oxígeno disuelto

A razón que la temperatura y salinidad incrementa, el oxígeno sufre afectación en su solubilidad. En cuanto a los sistemas de aireadores de superficie como bombas verticales, rociadores de bomba y ruedas de paletas no se ven influenciados por la salinidad (Boyd & Daniels, 1987, como se citó en Boyd & Tucker, 1998).

5.5. Requerimientos Nutricionales de *Litopenaeus vannamei*

A lo largo de los años los requerimientos nutricionales de la familia *Penaeidae* han sido estudiados donde los porcentajes de proteínas para camarones se encuentran en un rango de 25% y 35%, los niveles de lípidos recomendados de 6-7,5%, así mismo los ácidos grasos entre 0,3% y 0.4 % y desde 40 mg/kg a 1 000 mg/kg para vitaminas como suplemento (Akiyama & Tan, 1991). La proteína es considerada el macronutriente más costoso para camarones por lo que es de suma importancia que el nivel óptimo sea el adecuado en el proceso de formulación de alimentos (Velasco et al., 2000). La alimentación en juveniles es rica en minerales para un rápido crecimiento, por lo que es necesario contar con un grado de oxigenación mayor (Córdova & Granda, 2019). Convirtiéndose la alimentación como el costo principal en la actividad acuícola (Varas-Chiquito et al., 2017). Estos costos son producto del uso de harinas de origen animal al

tener mayor porcentaje de digestibilidad, palatabilidad y atractancia que las harinas de origen vegetal (Noblecilla, 2020). Así mismo lo afirma Ghosh (2018), que debido al alto grado de proteína (40%) reflejan costos del 50-70% en la producción. En un estudio realizado por Kureshy & Davis (2002), afirman que la presencia de ciertos ingredientes puede aumentar la disponibilidad de nutrientes en las dietas, en su caso alimento con harina de calamar se consumió a una tasa mayor que las tradicionales.

5.6. Requerimiento de proteínas

Las proteínas son cadenas largas de aminoácidos todos compuesto por nitrógeno unidos por enlaces peptídicos, donde medir el contenido de nitrógeno es un método para calcular el contenido de proteínas, y cumple propósitos importantes en el organismo como es de proporcionar energía, suministrar aminoácidos, cumplir con requisitos de proteínas funcionales, enzimas, hormonas y proteínas estructurales (Prabu et al., 2017). Pero fundamentalmente, al presentarse algún cambio no covalente en la estructura secundaria y terciaria de alguna molécula proteínica es considerado como una desnaturalización de proteínas (Anema, 2020).

La estructura tridimensional de una proteína nativa sufre afectaciones por procesos naturales ambientales, uno de ellos es la denominada “desnaturalización” quien está influenciada directamente por la fuerza iónica (salinidad), sales inorgánicas, temperatura, variación de pH (Tello-Solis & Hernandez-Arana, 1995, cómo se citó en Cadena-Cadena et al., 2019).

5.7. Propiedades del pellet

El pellet necesita ser adecuado en cuanto a tamaño para poder ser llevado a la boca y de esta manera el camarón según sus hábitos poder cargarlo mientras comen y suelen nadar con el alimento (Cruz-Suárez, 1996). Sin embargo, los hábitos alimenticios no permiten que aproveche el contenido nutricional del pellet lo que lleva a un incremento del porcentaje de materia orgánica distribuida al agua y suelo del estanque (Bardera et al., 2021). Existe el proceso peletizado y extruido para el alimento balanceado que son técnicas empleando temperaturas elevadas por periodos de tiempo que suelen ser cortos (Zhang et al., 2019). Un factor a considerar para un alimento balanceado de calidad, es la tasa de pérdida de proteínas al ser expuesto en el estanque de cultivo (Richter et al., 2021). El alimento peletizado se lo define como un proceso mecánico donde varios

alimentos muy finamente molidos y humedecidos son mezclados y unidos homogéneamente para el siguiente proceso de vapor donde se unifican en forma de cilindros, conocidos como pellets (Soares et al., 2021). Posterior pasan al proceso de enfriado con aire contra flujo para llevar a una clasificación por tamaño (Díaz & Paredes, 2021).

En otra instancia, la principal característica del alimento extruido es que la carga bacteriana es mínima por procesos de pasteurización y tamaño uniforme, así como la gelatinización del almidón aumenta la digestibilidad y estabilidad en el agua (Muñoz, 2004). Así lo afirma Delgado et al. (2021), quien demostró que hacer uso de harina de algodón a partir de su semilla sin glándulas alcanza a sustituir harina de pescado en alimentos extruidos, siendo una alternativa factible en temas de costos y composición nutricional.

5.8. Lixiviación

Lixiviación es la acción que se produce al disolverse en el agua componentes que forman parte de un alimento balanceado. Esto junto a la hidroestabilidad es muy importante en especies como el camarón que poseen una alimentación lenta y que lo manipulan antes de ingerirlos (Gucic, 2008). Así mismo lo definen Delgado & Reyes-Jaquez (2018), como el proceso en que los componentes hidrosolubles del alimento balanceado se disuelven en el agua.

5.9. Lixiviación del alimento peletizado de uso en acuicultura

La lixiviación de nutrientes esenciales como vitaminas, minerales y aminoácidos en productos comerciales puede conducir a la contaminación ambiental en sus operaciones acuícolas, además de una nutrición inadecuada, teniendo más problemas con microdietas para peces larvales y con alimentos para especies como camarones y cangrejos que maceran su dieta antes de ingerirlos, aunque a menudo sucede después de tiempos prolongados de inmersión en el agua (Watson et al., 2015).

La desintegración y lixiviación del alimento se considera más en camarones que en peces debido a los hábitos alimenticios ya que debe poseer una estabilidad al momento de ser sumergido al agua para mantener su valor nutricional y ser consumido por su atractividad por el camarón (Jory, 2001). Para que el alimento se mantenga estable se debe considerar el tamaño del pellet, materias primas, componentes químicos o naturales como

aglutinantes, ingredientes en la cohesión y paletización, así como atractantes paleatables para un consumo en menor tiempo posible por parte del organismo (Dorado, 1996).

5.10. Factores que afectan al alimento balanceado en el agua

5.10.1. Ingredientes

Los compuestos que se usan al momento de la preparación de una dieta balanceada para alguna especie son gracias a la calidad y propiedades del mismo, de modo que se debe aprovechar ingredientes que contengan propiedades de aglutinarse para perfeccionar la calidad y mantenerse estable en el agua (Lim & Cuzon, 1994).

5.10.2. Procesamiento

Las partículas del alimento deben ser uniformes, es necesario resaltar el grado de molienda y la igualdad de tamaño para conseguir un grado alto de gelatinización del almidón para una mejor estabilidad al ser sumergido al agua, de caso contrario, conducen a fracturas en el pellet para dar ingreso al agua, disminuyendo su estabilidad (Obaldo et al., 2002). En ese mismo contexto cabe destacar que los pellets de menor diámetro tienen la capacidad de compactarse y mantenerse en agua mejor que teniendo un mayor diámetro (Cruz-Suarez et al., 2006).

5.10.3. Aglutinantes

Como se mencionó anteriormente, las consecuencias de que los camarones son lentos en consumir el pellet es que sea necesario un pellet estable en el agua por un extenso tiempo, un ingrediente para conseguir esto son los aglutinantes al mejorar físicamente el alimento balanceado, previniendo la desintegración y pérdida de componentes nutricionales hidrosolubles al exponerlo en agua (Stickney, 2000). Esto se logra por procesos físicos como aumentar viscosidad al combinar moléculas de almidón, proteínas, gomas, celulosa y sólidos solubles (Sørensen et al., 2010, como se citó en (Turchini et al., 2019).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales y Equipos

6.1.1. Materiales

- Balanceado para camarón blanco
- Agua marina filtrada saturada de O_2
- Agua para consumo humana saturada de O_2
- Agua destilada
- Cloro de uso doméstico
- Frascos plásticos (1 Lt) (Unidad experimental)
- Recipientes volumétricos
- Etiquetas, marcadores
- Mallas
- Fundas herméticas con cierre
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pastillas catalizadoras
- Pastillas antiespumantes

6.1.2. Equipos

- Balanza de precisión Mettler Toledo XP404S
- Peachímetro WATEPROOF pH/TEMP
- Aireadores
- Estufa de laboratorio MEMMERT
- Unidad de digestión totalmente automática DKL
- Unidad de destilación automática UDK 149
- Bureta BOECO DCB 5000

6.1.3. Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) 96%
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 35%
- Agua destilada

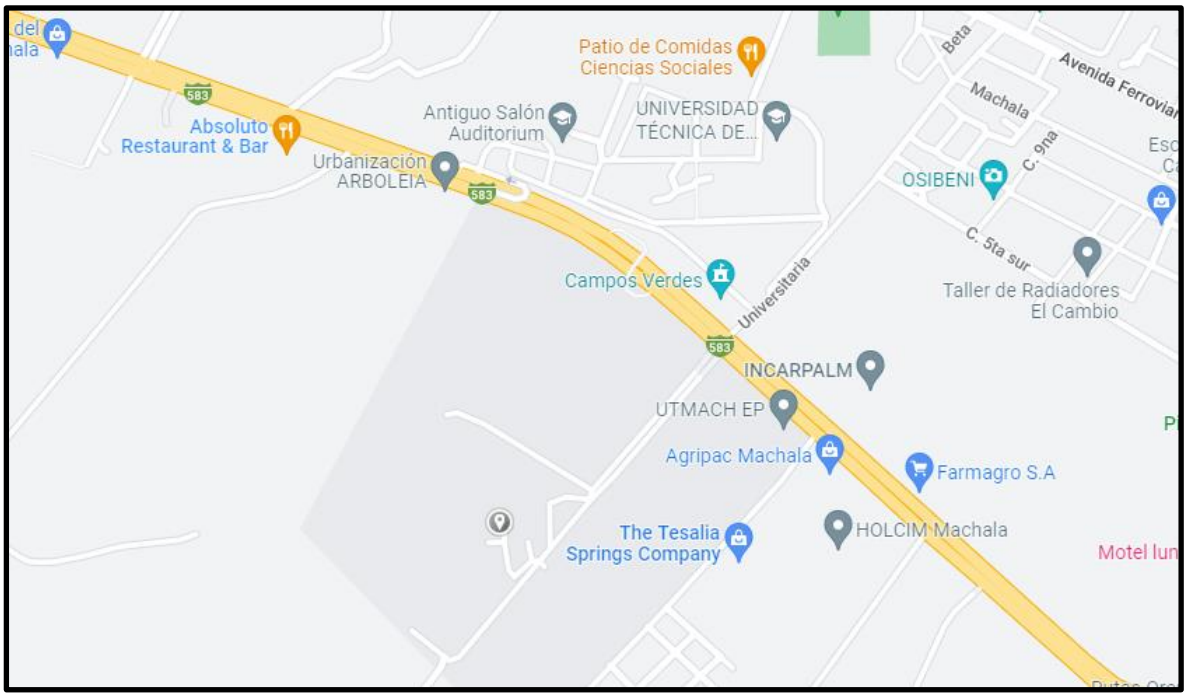
- Ácido bórico (H_3BO_3)
- Hidróxido de Sodio (NaOH)
- Ácido clorhídrico (HCl) 0.2N
- Rojo de metilo
- Metanol 99%

6.2. Ubicación de área experimental

6.2.1. Lugar de estudio

El estudio se realizó en la provincia de El Oro, cantón Machala, en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias con coordenadas -3.291522, -79.913918, cuyo encargado es el Ing. Quim. Carlos Pezo, en la Universidad Técnica de Machala.

Figura 1. Ubicación del lugar donde se realizó el experimento.



6.3. Diseño Experimental

Se desarrolló el estudio experimental empleando un Experimento Factorial Completamente al Azar Fraccionado en 3x4, ya que se manipularon dos factores de estudio que fueron salinidad con tres tratamientos (0 ppt, 15 ppt, 30 ppt), e intervalos de tiempo de 30 minutos, 60 minutos, 120 minutos y 360 minutos, construyendo 12 combinaciones de tratamientos replicadas 3 veces generando 36 unidades experimentales con un material y entorno experimental homogéneo.

Figura 2. Croquis del Experimento Factorial Completamente al Azar.

HORA	Réplica 1			Réplica 2			Réplica 3		
30 min	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)
60 min	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)
120 min	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)
360 min	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)	T1 (0 ppt)	T2 (15 ppt)	T3 (30 ppt)

Tratamientos: (T1: 0,3 ppt, T2: 15 ppt y T3: 30 ppt)

6.3.1. Modelo Matemático

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + e_{ijk}$$

Donde:

Yijk: Es la variable aleatoria medida en el i-esimo sujeto (repetición), j-ésimo nivel o versión FE A y el k-ésimo nivel o versión FE B.

μ: Media general de VD.

αj: efecto del j-ésimo nivel o versión del FE A.

βk: efecto del k-ésimo nivel o versión del FE B.

(αß)jk efecto de interacción entre el j-ésimo nivel o versión del FE A y el k-ésimo nivel o versión del FE B.

eijk: Error experimental en el i-ésimo sujeto asociado a la combinación del j-ésimo nivel o versión del FE A y el k-ésimo nivel o versión del FE B

6.4. Manejo del Ensayo

El presente estudio realizado es de tipo experimental, dividido en 3 etapas, la primera etapa es la preparación de agua y unidades experimentales, la segunda fase se sometió la muestra de balanceado en los diferentes tratamientos y por último el análisis químico por el método Kjeldahl.

6.4.1. Obtención de agua de mar filtrada

Para la preparación se usó una pecera con capacidad de 150 Lt donde se colocó agua de mar usada en laboratorio previamente filtrada a 30 ppt de salinidad y se saturó de oxígeno empleando aireadores por 72 horas.

- **0 ppt:** Se usó agua de consumo humano comercial previamente saturada de oxígeno (15 Lt) usando aireadores por 48 horas, menos tiempo debido a que según (Boyd & Tucker, 1998), el agua con menos concentración de salinidad retiene más oxígeno disuelto que con salinidades altas.
- **15 ppt:** Para obtener 16 litros de agua con 15 ppt se usó 8 litros de agua de mar filtrada usada en laboratorio de larvas de camarón (30 ppt) y 8 litros de agua de consumo humano (0,3 ppt).
- **30 ppt:** Se usó agua salina usada en laboratorio filtrada (30 ppt)

Hay que tener en cuenta que según Boyd & Tucker (1998), la salinidad varía de acuerdo a la temperatura ya que al incrementarse se produce una especie de evaporación de las sales.

6.4.2. Preparación de unidades experimentales

Se utilizaron 36 unidades experimentales de las cuales 12 fueron empleadas para cada tratamiento con sus respectivas réplicas (3).

Cada unidad fue llenada con ayuda de un recipiente volumétrico a 1 Lt de agua de su respectivo tratamiento. Para preparar la muestra del factor de estudio (alimento balanceado), se pesaron 4 gr en una balanza de precisión Mettler Toledo XP404S.

6.4.3. Muestras de alimento balanceado

El balanceado comercial utilizado fue fabricado por proceso de peletizado en la provincia del Guayas el 14 de Junio del 2022 y consumido en la provincia de El Oro, el 21 de Junio del mismo año. Las muestras de alimento fueron tomadas de una granja de producción de *Litopenaeus vannamei*, el saco previamente fue abierto debido a que se estaba utilizando en el abastecimiento de alimentadores automáticos.

Análisis garantizados por el fabricante:

- Proteína (min) 32%
- Ceniza (max) 12%
- Humedad (max) 11%
- Grasas (min) 5%
- Fibra (max) 4%

6.4.4. Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteína en alimentos para animales

Se utilizaron 2 gr de muestra de alimento balanceado, previamente secado a 105 °C en un tubo de ensayo, y pesada en balanza analítica de precisión, se añadió pastillas catalizadoras y antiespumantes, ácido sulfúrico concentrado, peróxido de hidrógeno para la etapa de digestión a 420°C por 50 minutos.

Para el proceso de destilación, se colocó la muestra en la Unidad de destilación automática UDK 149 y finalmente el proceso de titulación cuyo resultado se multiplicó por el factor 6.25 propuesto por la AOAC para obtener el porcentaje de proteína a partir del nitrógeno presente en la muestra.

6.5. Variables a medir

6.5.1. Variables independientes:

- Salinidad (ppt)
- Tiempo de inmersión (min)

6.5.2. Variable dependiente:

- Lixiviación de proteína (%)

Una vez tomadas las muestras de acuerdo a su tratamiento de salinidad y tiempo de inmersión se realizó el método de análisis de proteínas “Kjeldahl” para obtener la concentración presente de nitrógeno total que al multiplicar por el factor de proteína (6.25) se obtuvo el contenido de proteína. Para obtener el porcentaje de lixiviación de las muestras de alimento balanceado se realizó una regla de tres simple donde nuestro 100% de referencia fue el 32% de contenido del balanceado usado inicialmente.

6.6. Procesamiento estadístico

Para determinar si se presenta o no efecto de interacción entre los niveles de cada factor de estudio (0,3 ppt, 15 ppt, 30 ppt, 30 min., 60 min., 120 min., 360 min.) se procedió con un ANOVA Factorial Intergrupos. En caso de no presentarse efecto de interacción se realizó una modificación en la matriz de datos, en función de conocer la mejor combinación de tratamiento.

Si no se presentan efectos de interacción entre los tratamientos de cada factor de estudio se determinaron efectos principales por separado (salinidad-tiempo). Anticipado se verificó el cumplimiento de los requisitos de homogeneidad de varianzas (Test de Levene) y de los requisitos del modelo paramétrico usado (Independencia de observaciones), Normalidad de datos verificada con el test de Shapiro-Wilk.

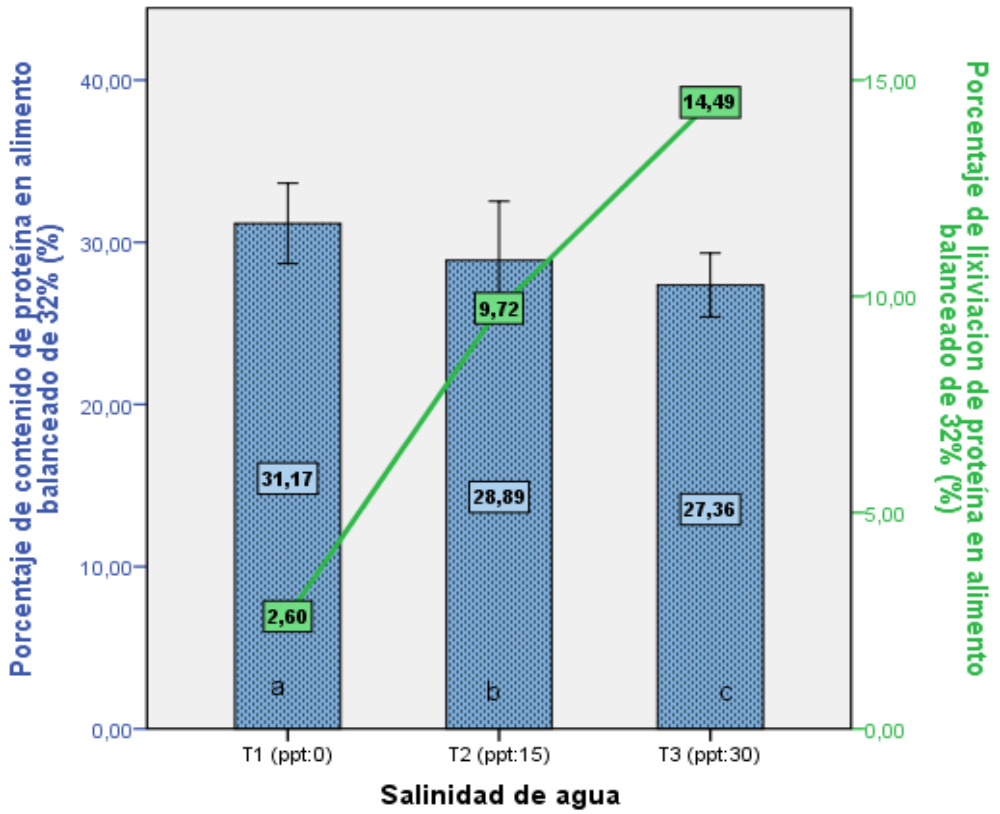
Se mostraron los resultados obtenidos mediante gráficos de barras simples para observar las diferencias o similitudes entre los tratamientos. Con el programa estadístico SPSS se realizó el análisis estadístico de los datos, con un nivel de confiabilidad del 95% de estimación.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Efecto de la salinidad en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial

La comparación entre los tratamientos objeto de estudio, demuestra que fueron estadísticamente diferente según las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos, teniendo en T_3 (30 ppt) un mayor porcentaje de lixiviación (14,5%), equivaliendo a la pérdida de 4,64% de proteína del pellet de 32%, mostrando en los resultados un valor de 27,36% de proteína en el pellet. Por otro lado, el T_2 (15 ppt) con un valor de 28,89% de proteína, perdiendo 3,11% de proteína, equivaliendo a 9,72% lixiviado y el T_1 (0 ppt) alcanzó un valor de lixiviación de 2,60% con 31,17% de proteína, lo que equivale a una pérdida de 0,83% de proteína (Fig. 3).

Figura 3. Efecto de la salinidad en la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado a 3 concentraciones diferentes de salinidad. Se expresa como promedio ±DE.



*Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor <0,05 (prueba de Duncan)

En los 3 diferentes tratamientos de la variable salinidad, la prueba de Análisis de Varianza Factorial Intergrupos demuestra que se presentan diferencias estadísticas significativas entre los resultados obtenidos de contenido de proteína ya que el p-valor es menor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis de diferencia, comprobando que existe efecto directo de las tres concentraciones de salinidad en el porcentaje de lixiviación de proteínas (Tabla 1).

Tabla 1. Prueba de efectos inter-sujetos para la variable salinidad en el contenido de proteínas en el alimento balanceado.

Fuentes variabilidad	**Suma de cuadrados**	**gl**	**Media cuadrática**	**F**	**Sig.**
Entre grupos	87,908	2	43,954	23,172	,000
Dentro de grupos	60,699	32	1,897		
Total	**148,607**	**34**			

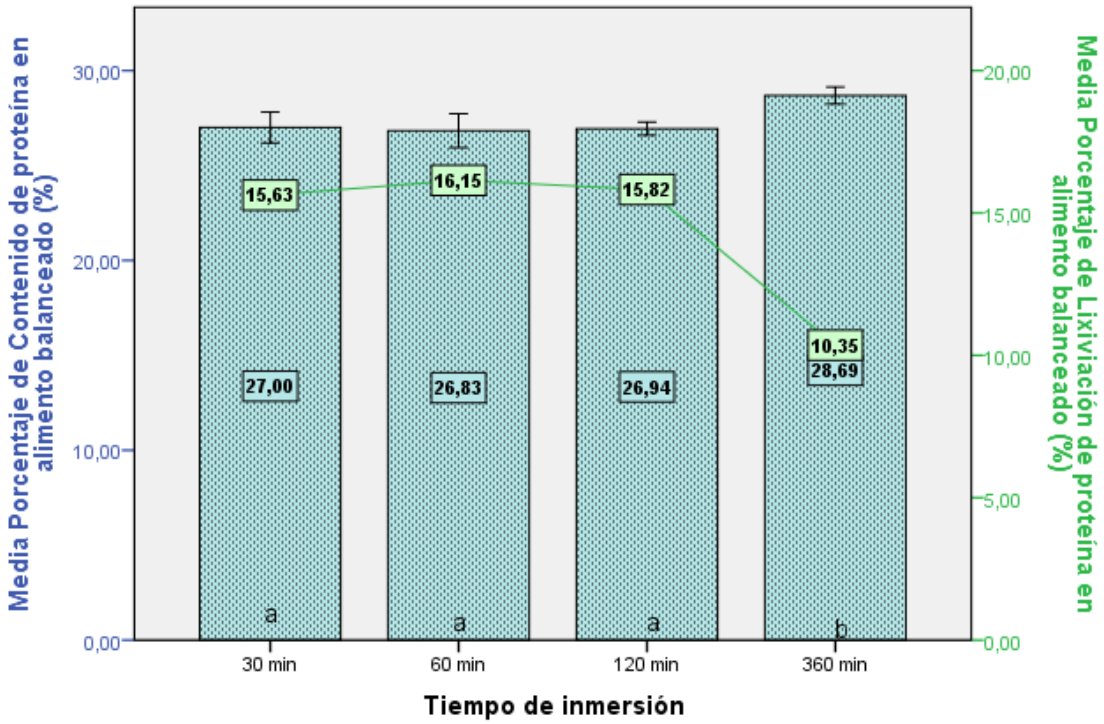
Elaborada por: El autor

Los resultados del presente estudio demuestran que existe un mayor porcentaje de lixiviación en agua con alta salinidad. Esta condición se explica en que la estructura de la proteína y sus funciones se ven afectadas negativamente por altas concentraciones de sal (solubilidad, unión, estabilización y cristalización de las proteínas) (Sinha & Khare, 2014). Desde un punto de vista nutricional, la lixiviación puede ser necesaria para estimular el consumo de los pellets, sin embargo, el punto negativo es que puede comprometer la calidad nutricional de una dieta (Baskerville-Bridges & Kling, 2000). Por otra parte, al observar una menor pérdida de proteína en agua con baja salinidad, estos resultados coinciden con lo reportado por Fagbenro & Jauncey (1995), quienes demostraron que la lixiviación del contenido de proteína en alimento balanceado fue muy baja en cultivo de tilapia en salinidades menores a 3 ppt.

7.2. Efecto del tiempo de inmersión en salinidad a 30 ppt en la lixiviación de proteínas en alimento balanceado comercial

La figura 4 demuestra el efecto del tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteína en alimento balanceado expuesto a una salinidad de 30 ppt. En los resultados se observa que a los 30 min se encuentra presente 27% de contenido de proteína, es decir, perdió 5% del pellet de 32% de proteína, lo que equivale a 15,63% proteína lixiviada. A los 60 min, 26,83% de contenido de proteína, perdiendo 5,17% de los 32% del pellet, lo que es igual a 16,15% proteína lixiviada. Así mismo a los 120 min, hubo 26,94% de contenido de proteína, perdiendo 5,06% de proteína del pellet de 32% lo que es igual a 15,82% de lixiviación. Por otra parte, se observó que a los 360 min el valor de contenido de proteína es de 28,69%, perdiendo 3,31% de proteína de los 32% del pellet, lo que significa un 10,35% de lixiviación, es decir, un valor menor de lixiviación por lo que se especula que en dichos resultados pudo haber mortalidad bacteriana que pudieron haber estado presentes en el alimento balanceado o por cierto grado de error en la manipulación del experimento (Figura 4).

Figura 4. Efecto de tiempo de inmersión en la concentración y lixiviación de proteínas de un alimento balanceado en 30 ppt de salinidad. Se expresa como promedio ±DE.



*Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor <0,05 (prueba de Duncan)

En la Tabla 2 se evidencia mediante la prueba estadística de Análisis de Varianza Factorial Intergrupos que se presentan diferencias significativas entre los diferentes tiempos de inmersión, con un p-valor menor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis de diferencia, concluyendo que el tiempo de inmersión presenta efecto de interacción en la cantidad de proteína en el alimento balanceado en salinidad de 30 ppt (Tabla 2).

Tabla 2. Prueba de efecto intergrupos para la variable tiempo de inmersión en salinidad 30 ppt en la concentración de proteínas.

ANOVA

Porcentaje de contenido de proteína en alimento balanceado comercial (%)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,038	3	2,346	5,286	,027
Dentro de grupos	3,551	8	,444		
Total	10,589	11			

Elaborada por: El autor

En cuanto a los resultados de lixiviación de proteína, se observa que a los 30 min hubo 15,6% de lixiviación y no presentaron diferencias significativas a los resultados de 60 min y 120 min con 16,1% y 15,8% de proteína lixiviada. Estos resultados coinciden con lo reportado por Cruz-Suárez et al. (2002) quienes indicaron que el alimento en 60 minutos perdió 12% de proteína encontrándose en un ambiente natural. Carvalho & Nunes (2006) reportaron pérdidas de hasta 7% de lixiviación en 60 min siendo estos valores inferiores que el presente trabajo. A los 360 min presentó diferencias significativas al resto de tiempos de inmersión donde hubo 10,35% de lixiviación presumiendo que estos últimos resultados se dan debido a la descomposición de bacterias que pudieron haber estado presentes en el pellet ya que según Apella & Araujo (2005), al haber muerte bacteriana, sus células se lisan y ocurre una liberación de enzimas y de acuerdo con Starr et al. (2013), la mayoría de enzimas son proteínas. Otra característica en el tiempo de inmersión de 360 min fue la presencia de malos olores y según Mohammed et al. (1991) esto es consecuencia de muerte bacteriana. Es así que el nitrógeno que queda en suspensión se concentra en el sustrato (pellet) y aumentan los valores de contenido de proteína al realizar los análisis.

7.3. Efecto de salinidad-tiempo en la lixiviación de proteínas de un alimento balanceado comercial

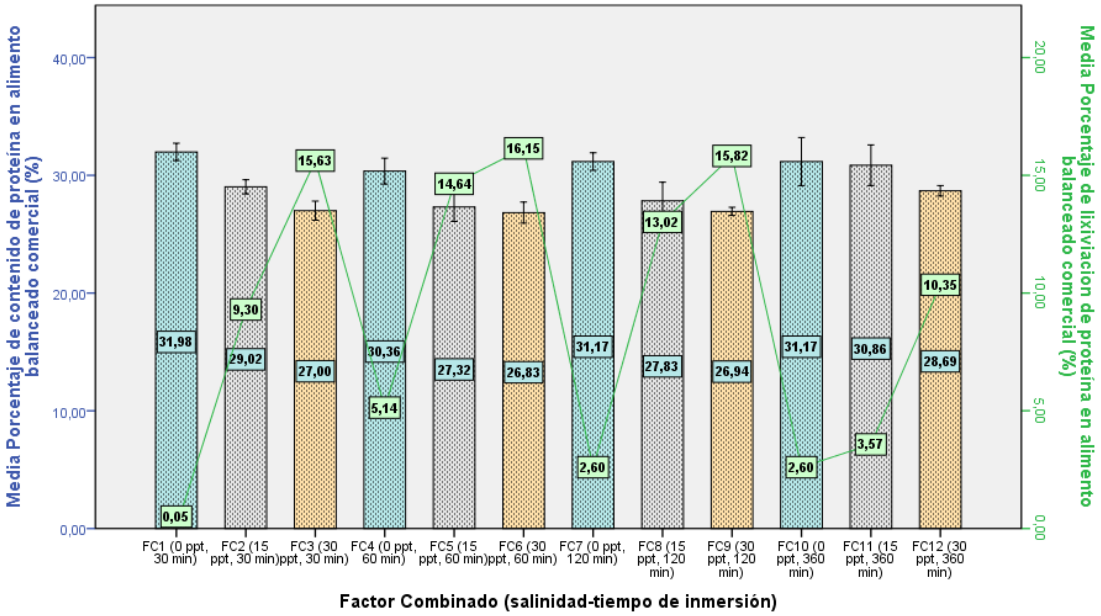
En la Figura 5 se observa el efecto de la salinidad y tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado donde se visualiza que el FC1 (0 ppt, 30 min) fue la combinación de tratamiento con mayor contenido de proteína, 31,98% (0,063% porcentaje lixiviado), y diferente estadísticamente al FC6 (30 ppt, 60 min) obteniendo el menor contenido de proteína con 26,83% (16,15% porcentaje lixiviado).

En las siguientes combinaciones las medias son similares es así que estadísticamente no existen diferencias significativas, teniendo los factores FC1 (0 ppt, 30 min), FC4 (0 ppt, 60 min), FC7 (0 ppt, 30 min), FC 10 (0ppt, 360 min) con valores de proteína de 31,98% (0,063% porcentaje lixiviado), 30,36% (5,13%porcentaje lixiviado), 31,17% (2,60% porcentaje lixiviado) y 31,17% (2,60% porcentaje lixiviado) respectivamente.

El siguiente grupo que muestran similitudes estadísticas entre ellas y diferentes estadísticamente al resto fue el FC2 (15 ppt, 30 min) FC5 (15 ppt, 60 min), FC7 (0 ppt, 30 min) y FC11 (15 ppt, 360 min) conteniendo niveles proteicos de 29,02% (9,31% porcentaje lixiviado), 27,32% (14,63% porcentaje lixiviado), 31,17% (2,60% porcentaje lixiviado) y 30,86% (3,56% porcentaje lixiviado) respectivamente.

El último grupo que no presentó diferencias estadísticas significativas entre ellas y sí del resto fue el FC3 (30 ppt, 30 min), FC6 (30 ppt, 60 min), FC9 (30 ppt, 120 min) y FC12 (15 ppt, 360 min) con valores de proteína-lixiviación de 27% (15,63% porcentaje lixiviado), 26,83% (16,15% porcentaje lixiviado), 26,94% (15,81% porcentaje lixiviado) y 28,69% (10,34% porcentaje lixiviado).

Figura 5. Efecto de Factor combinado en la concentración y lixiviación de proteínas de un alimento balanceado. Se expresa como promedio ±DE.



En la prueba estadística ANOVA se evidencia que existe diferencia significativa entre los factores combinados y contenido de proteína, debido a que el p-valor fue de 0,000011, por lo que se acepta la hipótesis de diferencia, demostrando que los factores combinados presentan interacción sobre el contenido de proteína en el alimento (Tabla 4).

Tabla 4. Prueba de efectos inter-sujetos para Factor combinado en la concentración de proteínas.

ANOVA

Porcentaje de contenido de proteína en alimento balanceado comercial (%)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	118,883	11	10,808	8,363	,000
Dentro de grupos	29,724	23	1,292		
Total	148,607	34			

Elaborada por: El autor

Los resultados del presente trabajo muestran que a salinidad 0 ppt y 30 minutos de inmersión se produce una baja lixiviación de proteínas en el alimento balanceado observando una lixiviación del 0,05% de la proteína del alimento utilizado, resultados que son similares a lo reportado por Fagbenro & Jauncey (1995) quienes comprobaron que a salinidad baja existe menos del 5% de lixiviación. De igual manera, Divakaran & Velasco (1999) demostraron que a 30 minutos de inmersión en agua dulce existe una lixiviación casi nula. En contraparte, el valor más alto de proteína lixiviada se obtuvo en salinidad de 30 ppt en 60 minutos de inmersión con 16,15%, lo que se ve reflejado por Cruz-Suárez et al. (2002) quienes demostraron que a 60 minutos a salinidad de 35 ppt la proteína sufrió una lixiviación del 12%.

Por otra parte, en lo que se refiere a salinidad de 0 ppt, independientemente del tiempo de inmersión hubo menos pérdida de proteínas en el alimento balanceado. En cambio, factores combinados de salinidad alta presentaron mayor lixiviación de proteínas en el alimento balanceado con valores de 16,1%, 15.6%, 15.8% al igual que el trabajo realizado por Smith et al. (2002), quienes a salinidad de 35 ppt y más de 60 minutos de inmersión obtuvieron alrededor de 15% de lixiviación.

8. CONCLUSIÓN

Los tratamientos expuestos demostraron que la salinidad influye en la pérdida de proteínas en el alimento balanceado por efectos negativos propios de la concentración de sal. Sin embargo, esta condición no tiene consecuencias en una producción acuícola ya que esta liberación provoca un efecto atractante para que los organismos mediante quimiorrecepción lo ingieran, siempre y cuando se lleve un buen control de amonio en el medio de cultivo.

En relación con el tiempo de inmersión en el tratamiento influyente (30 ppt), a los 360 min se demostró diferencias estadísticas significativas que el resto de tiempos de inmersión (30 min, 60 min, 120 min), resultados que probablemente fueron influenciados por acción de descomposición de bacterias presentes en el alimento.

Al revisar los efectos conjuntos de estos dos factores (salinidad-tiempo) se demostró que el agua a baja salinidad presenta menos porcentaje de lixiviación de proteínas en el alimento balanceado, en contraparte que a 60 minutos y a salinidad de 30 ppt, se produce una mayor pérdida que el resto de factores combinados.

9. RECOMENDACIONES

Una de las líneas más importantes en nutrición de *Litopenaeus vannamei* es la formulación de dietas sustentables, digeribles y eficientes. En futuras investigaciones se recomienda afirmar o descartar la presencia de microorganismos presentes en el alimento, o agua usada mediante análisis microbiológicos. Además, investigar el contenido de nitrógeno en forma de proteína en el agua y alimento. Por otro lado, sería muy útil aplicar otra técnica de medición de contenido de proteína en muestras expuestas en agua para determinar la lixiviación de proteínas en el alimento balanceado, así como determinar si en temperaturas altas por invierno la salinidad y tiempo de exposición afectan al contenido de proteínas.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akiyama, D. M., & Tan, R. K. H. (1991). Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia, September 19-25, 1991. *Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop (1991: Thailand and Indonesia)*. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300168729

Anema, S. G. (2020). Chapter 9 - The whey proteins in milk: Thermal denaturation, physical interactions, and effects on the functional properties of milk. En M. Boland & H. Singh (Eds.), *Milk Proteins (Third Edition)* (pp. 325-384). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00009-8

Apella, M. C., & Araujo, P. Z. (2005). Microbiología de agua. Conceptos básicos. La Desinfección Y Descontaminación Del Agua. https://www.academia.edu/download/54543261/leccion_4_02_Capitulo_02.pdf

Association of Official Analytical Chemist. (2000). *Official Methods of Analysis*.

Bardera, G., Owen, M. A. G., Façanha, F. N., Alcaraz-Calero, J. M., Alexander, M. E., & Sloman, K. A. (2021). The influence of density and dominance on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feeding behaviour. *Aquaculture , 531*, 735949. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735949

Baskerville-Bridges, & Kling. (2000). Development and evaluation of microparticulate diets for early weaning of Atlantic cod Gadus morhua larvae. *diets for early weaning of Atlantic …*. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20001418925

Bower, C. E., & Bidwell, J. P. (1978). Ionization of ammonia in seawater: Effects of temperature, pH, and salinity. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, *35*(7), 1012-1016. https://doi.org/10.1139/f78-165

Boyd, C., & Tucker, C. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3

Cadena-Cadena, F., Cárdenas-López, J. L., Ezquerra-Brauer, J. M., Cinco-Moroyoqui, F. J., López-Zavala, A. A., Santacruz-Ortega, H. D. C., & Rivero-Espejel, I. A. (2019). Effect of Temperature and pH on the Secondary Structure and Denaturation Process of Jumbo Squid Hepatopancreas Cathepsin D. *Protein and Peptide Letters*, *26*(7), 532-541. https://doi.org/10.2174/0929866526666190405124353

Carbajal-Hernández, J. J., Sánchez-Fernández, L. P., Hernández-Bautista, I., & Hernández-López, J. (2017). Modelo basado en redes neuronales artificiales para la evaluación de la calidad del agua en sistemas de cultivo extensivo de camarón. *Tecnología y ciencias del agua*, *08*(5), 71-89. https://doi.org/10.24850/j-tyca-2017-05-05

Carvalho, E. A., & Nunes, A. (2006). Effects of feeding frequency on feed leaching loss and grow-out patterns of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed under a diurnal feeding regime in pond enclosures. *Aquaculture , 252*(2), 494-502.

https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.013

Chia N. (2018). *Análisis comparativo de la producción camaronera en agua dulce y salada en el cantón jama* [repositorio.uees.edu.ec]. http://repositorio.uees.edu.ec/handle/123456789/2890

Córdova & Granda. (2019). Viabilidad económica del cultivo hiperintensivo de camarón (Litopenaeus vannemei) en agua dulce con sistema biofloc, sector Guabillo, cantón Arenillas. *Polo del Conocimiento: Revista*. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7164328

Cruz-Suárez, L. E. (1996). Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. *Avances en Nutrición acuícola. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, *11*, 192-207. http://eprints.uanl.mx/8350/

Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Marín-Zaldivar, L. F., Guajardo-Barbosa, C., Nieto-López, M., & Salinas-Miller, A. (2002). Historia y Estatus Actual de la Digestibilidad y Algunas Características Físico-químicas de los Alimentos Comerciales para Camarón Usados en México. *Avances en Nutrición Acuicola*. https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/224

Cruz-Suarez, L. E., Ruiz-Díaz, P. P., Cota-Cerecer, E., Nieto-Lopez, M. G., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Villarreal-Cavazos, D., & Ricque-Marie, D. (2006). Revisión sobre algunas características físicas y control de calidad de alimentos comerciales para camarón en México. *Avances en Nutrición Acuicola*. https://www.ingenierias.uanl.mx/index.php/acu/article/view/175

Delgado, E., Valles-Rosales, D. J., Flores, N. C., & Reyes-Jáquez, D. (2021). Evaluation of fish oil content and cottonseed meal with ultralow gossypol content on the functional properties of an extruded shrimp feed. *Aquaculture Reports*, *19*, 100588. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100588

Delgado, & Reyes-Jaquez. (2018). Extruded aquaculture feed: a review. *Extrusion of Metals, Polymers and*. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=_dCPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA145&dq=Delgado,+E.,+%26+Reyes,+D.+(2018).+Extruded+Aquaculture+Feed:+A+Review.+In+Extrusion+of+Metals,+Polymers,+&ots=DLq340i5Hg&sig=Rp861zNHqEMfmfH-1H5Y_9mvBQ4

Díaz & Paredes. (2021). Digestibilidad, energía digestible y metabolizable del sacha inchi (Plukenetia volubilis L) peletizado y extruido en cuyes (Cavia porcellus). *Veterinarias del Perú*. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172021000500006&script=sci_arttext

Divakaran, S., & Velasco, M. (1999). Effect of proteolytic enzyme addition to a practical feed on growth of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research*, *30*(5), 335-339. https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00333.x

Dorado, M. (1996). Formulación de dietas. Fundamentos de nutrición y alimentación en acuacultura. *INPA Colombia*, 237-272.

Esparza-Leal, H. M., Ponce-Palafox, J. T., Álvarez-Ruiz, P., López-Álvarez, E. S., Vázquez-Montoya, N., López-Espinoza, M., Mejia, M. M., Gómez-Peraza, R. L., & Nava-Perez, E. (2020). Effect of stocking density and water exchange on performance and stress tolerance to low and high salinity by *Litopenaeus vannamei* postlarvae reared with biofloc in intensive nursery phase. *Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society*, *28*(4), 1473-1483. https://doi.org/10.1007/s10499-020-00535-y

Fagbenro, O., & Jauncey, K. (1995). Water stability, nutrient leaching and nutritional properties of moist fermented fish silage diets. *Aquacultural Engineering*, *14*(2), 143-153. https://doi.org/10.1016/0144-8609(94)P4432-B

FAO. (2019). *Programa de información de especies acuáticas Penaeus vannamei*.

Fleckenstein, L. J., Kring, N. A., Tierney, T. W., Fisk, J. C., Lawson, B. C., & Ray, A. J. (2020). The effects of artificial substrate and stocking density on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) performance and water quality dynamics in high tunnel-based biofloc systems. *Aquacultural Engineering*, *90*, 102093. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102093

Jory, D. (2001). Manejo integral del alimento de Camarón, de estanques de producción camaroneros, y principios de bioseguridad. *Monterrey Nuevo León*, 26-30.

Gamboa-Delgado, J., Nieto-López, M. G., Maldonado-Muñiz, M., Villarreal-Cavazos, D., Tapia-Salazar, M., & Cruz-Suárez, L. E. (2020). Comparing the assimilation of dietary nitrogen supplied by animal-, plant- and microbial-derived ingredients in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: A stable isotope study. *Aquaculture Reports*, *17*, 100294. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100294

Ghosh, A. K. (2018). Effect of feeding level on growth, body composition, fatty acid profile, and nutrient accumulation in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society*, *26*(2), 405-417. https://doi.org/10.1007/s10499-017-0225-z

Gonzabay, Á. N., Vite, H. A., Garzón, V. J., & Quizhpe, P. (2021). Análisis de la producción de camarón en el Ecuador para su exportación a la Unión Europea en el período 2015-2020. *Polo del Conocimiento*, *6*(9), 1040-1058. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8094522

Gucic, M. (2008). *Digestibilidad in vivo de alimentos comerciales y experimentales para camarón blanco (Litopenaeus vannamei) cultivado a diferentes salinidades*. http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/205

Hattori, J. F. de A., Alves, D. R. S., Oliveira, S. R. de, Almeida, A. A. de S., & Boscolo, W. R. (2021). Attractiveness and palatability of liquid hydrolysates for Dourado (*Salminus brasiliensis*) fingerlings. *Aquaculture Research*, *52*(11), 5682-5690. https://doi.org/10.1111/are.15443

Khanjani, M. H., Alizadeh, M., & Sharifinia, M. (2020). Rearing of the Pacific white

shrimp, *Litopenaeus vannamei* in a biofloc system: The effects of different food sources and salinity levels. *Aquaculture Nutrition*, *26*(2), 328-337. https://doi.org/10.1111/anu.12994

Kureshy, N., & Davis, D. A. (2002). Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* , *204*(1), 125-143. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00649-4

Lim, C., & Cuzon, G. (1994). Water stability of shrimp pellet: A review. *Asian fisheries science*, *7*(2-3), 115-126.

Lopez, M. A. (2020). *Validación del método Kjeldahl para la determinación de nitrógeno total en suelos agrícolas del departamento de La Paz* [UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS]. https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/25691

Martínez, L. (1987). *Métodos de evaluación, control y racionamiento en la alimentación práctica*. Alimentación en Acuicultura. Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica. Madrid: Espinoza y Labarta Editores.

Meyer, D. (2004). *Introducción a la Acuacultura*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2014. https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/2490

Mohammed, S. I., Steenson, L. R., & Kirleis, A. W. (1991). Isolation and characterization of microorganisms associated with the traditional sorghum fermentation for production of sudanese kisra. *Applied and Environmental Microbiology*, *57*(9), 2529-2533. https://doi.org/10.1128/aem.57.9.2529-2533.1991

Muñoz, G. J. (2017). *Evaluación de la calidad del agua y sedimento de piscinas camaroneras durante un ciclo productivo del cultivo semintensivo en la Parroquia Cojimies, Cantón Pedernales, Provincia De Manabí, Ecuador* (M. Cárdenas Calle (ed.)) [Universidad Espíritu Santo]. http://repositorio.uees.edu.ec/handle/123456789/2181

Muñoz, O. (2004). Comparación entre extruído y pelletizado en alimentos de camarones. En *Avances en Nutrición Acuícola: Vol. VII* (pp. 397-417). eprints.uanl.mx. http://eprints.uanl.mx/8392/

Noblecilla, G. H. (2020). *Valoración de la proteína vegetal y proteína animal en el alimento balanceado para el cultivo de Litopeneus Vannamei* (M. L. Cun Jaramillo (ed.)). Universidad Técnica de Machala.

Obaldo, L. G., Divakaran, S., & Tacon, A. G. (2002). Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquaculture Research*, *33*(5), 369-377. https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00681.x

Paredes, J. R., & Rodríguez, J. S. (2020). *Monitoreo de los parámetros de temperatura y pH para evaluar su efecto en la producción de camarón blanco (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) en San Luis La Herradura, La Paz* [Universidad de El Salvador]. https://core.ac.uk/download/pdf/355870934.pdf

Poore, A. G. B., Ahyong, S. T., Lowry, J. K., & Sotka, E. E. (2017). Plant feeding

promotes diversification in the Crustacea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(33), 8829-8834. https://doi.org/10.1073/pnas.1706399114

Prabu, E., Felix, S., Felix, N., Ahilan, B., & Ruby, P. (2017). An overview on significance of fish nutrition in aquaculture industry. *International journal of high risk behaviors & addiction*. https://www.academia.edu/download/58633809/5-6-30-285.pdf

Richter, B. L., Castro, T. S., Michelato, M., Marinho, M. T., Gonçalves, G. S., & Furuya, W. M. (2021). Combination of lysine and histidine improves growth performance, expression of muscle growth-related genes and fillet quality of grow-out Nile tilapia. *Aquaculture Nutrition*, *27*(2), 568-580. https://doi.org/10.1111/anu.13207

Saltos, J. J. (2020). *El sector camaronero y su incidencia en el crecimiento económico de la provincia del Guayas durante el periodo 2013-2018* [Ingeniería Comercial, Universidad Politécnica Salesiana]. http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19058

Silva, J. F., Hamilton, S., Rocha, J. V., Borie, A., Travassos, P., Soares, R., & Peixoto, S. (2019). Acoustic characterization of feeding activity of *Litopenaeus vannamei* in captivity. *Aquaculture* , *501*, 76-81. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.013

Sinha, R., & Khare, S. K. (2014). Protective role of salt in catalysis and maintaining structure of halophilic proteins against denaturation. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 165. https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00165

Smith, D. M., Burford, M. A., Tabrett, S. J., Irvin, S. J., & Ward, L. (2002). The effect of feeding frequency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* , *207*(1), 125-136. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00757-8

Soares, R., Peixoto, S., Galkanda-Arachchige, H. S. C., & Davis, D. A. (2021). Growth performance and acoustic feeding behavior of two size classes of *Litopenaeus vannamei* fed pelleted and extruded diets. *Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society*, *29*(1), 399-415. https://doi.org/10.1007/s10499-020-00636-8

Starr, C., Evers, C. A., & Starr, L. (2013). Biología: conceptos y aplicaciones. Cengage Learning.

Stickney, R. (2000). *Feed fishing. Encyclopedia de Aquaculture* (John Wiley & Sons, Inc (ed.)).

Suantika, G., Situmorang, M. L., Kurniawan, J. B., Pratiwi, S. A., Aditiawati, P., Astuti, D. I., Azizah, F. F. N., Djohan, Y. A., Zuhri, U., & Simatupang, T. M. (2018). Development of a zero water discharge (ZWD)—Recirculating aquaculture system (RAS) hybrid system for super intensive white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture under low salinity conditions and its industrial trial in commercial shrimp urban farming in Gresik, East Java, Indonesia. *Aquacultural*

Engineering, *82*(0144-8609), 12-24. https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.04.002.

Turchini, G. M., Trushenski, J. T., & Glencross, B. D. (2019). Thoughts for the future of aquaculture nutrition: Realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. *North American Journal of Aquaculture*, *81*(1), 13-39. https://doi.org/10.1002/naaq.10067

Valencia-Castañeda, G., Frías-Espericueta, M. G., Vanegas-Pérez, R. C., Pérez-Ramírez, J. A., Chávez-Sánchez, M. C., & Páez-Osuna, F. (2018). Acute Toxicity of Ammonia, Nitrite and Nitrate to Shrimp *Litopenaeus vannamei* Postlarvae in Low-Salinity Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *101*(2), 229-234. https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z

Varas-Chiquito, M. A., León-Bassantes, L., Villacis-Chancay, U., & Alcívar-Aray, C. A. (2017). Alimentación sistematizada vs Alimentación tradicional en la producción de camarón *vannamei*. *Polo del Conocimiento*, *2*(7), 442-459. https://doi.org/10.23857/pc.v2i7.253

Velasco, M., Lawrence, A., Castille, L., & Obaldo, L. (2000). Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/download/272/270

Villarreal-Cavazos, D. A., Hinrichsen, J. P., Gamboa-Delgado, J., Nieto-López, M., Tapia-Salazar, M., Maldonado-Muñiz, M., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2017). Evaluación de la Atractabilidad, Palatabilidad y Consumo de Ingredientes en Alimentos Balanceados para el Camarón Blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Avances en Nutrición Acuicola*. https://www.ingenierias.uanl.mx/index.php/acu/article/download/27/27

von Ahnen, M., Aalto, S. L., Suurnäkki, S., Tiirola, M., & Pedersen, P. B. (2019). Salinity affects nitrate removal and microbial composition of denitrifying woodchip bioreactors treating recirculating aquaculture system effluents. *Aquaculture* , *504*, 182-189. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.068

Watson, A. M., Barrows, F. T., & Place, A. R. (2015). Leaching of taurine from commercial type aquaculture feeds. *Aquaculture Research*, *46*(6), 1510-1517. https://doi.org/10.1111/are.12309

Zhang, G., Ding, Y., Ni, C., Ban, Q., Xu, L., Guo, L., & Cheng, J. (2019). Physicochemical and Morphological Properties of Extruded Adlay (Coix lachryma-jobi L) Flour. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, *2019*. https://doi.org/10.1155/2019/6239870

11. ANEXOS

Figura 1. Preparación de agua.

Figura 2. Unidades experimentales con factor de estudio.

.

Figura 3. Colocación de muestras para proceso de digestión.

Figura 4. Medición de masa en balanza de precisión.

Figura 5. Muestras de pellets.

Figura 6. Proceso de destilación.

Método Kjeldahl

Johan Kjeldahl en 1883 publicó su “Método para la determinación de nitrógeno en compuestos orgánicos” trayendo características como versatilidad y facilidad para ejecutarlo con alta precisión en el sector alimentario, este método consta de 3 etapas que son digestión o mineralización, destilación y valoración (Castellanos (1987) como se citó en (Lopez, 2020).

Etapa de digestión

Se basa en un tratamiento donde el nitrógeno proteico se transforma en sulfato de amonio por el ácido sulfúrico en caliente con catalizadores de sulfato de cobre y sulfato de potasio. En la actualidad se usan digestores automáticos (Margarit (2014) como se citó en (Lopez, 2020).

$$N + H_2SO_4 \frac{Catalizadores}{Calor\ 400° - 600°C}\ CO_2 + (NH_4)_2SO_4 + SO_2$$

Etapa de destilación

La muestra una vez digerida, se alcaliniza y el nitrógeno se desprende en forma de amoniaco, este exceso destilado se recoge sobre un exceso de ácido bórico no conocido (Margarit (2014) como se citó en (Lopez, 2020).

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow NH_4 + H_2BO_3^-$$

Etapa de valoración

Esta cuantificación del nitrógeno amoniacal se realiza por una volumetría ácido-base del ion borato, usando ácido clorhídrico y como indicador una disolución alcohólica mezclando rojo de metilo y metanol (Margarit (2014) como se citó en (Lopez, 2020).

$$NH_4H_2BO_3 + H_2SO_4 \rightarrow NH_4HSO_4 + H_3BO_3$$

Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteína en alimentos para animales

- **Muestra:** 2 g de producto molido, y secado a 105 °C hasta peso constante, pesado con precisión y transferido cuantitativamente en un tubo de ensayo. En el caso de productos o en proteínas (carne o pescado) la muestra puede ser reducida a 1 gr.
- **Reactivos para digestión**
    - Para cada muestra añadir en el tubo de ensayo 1 pastilla catalizadora W (cód. CT0006613).
    - 12 ml de ácido sulfúrico concentrado (96-98%) 96%
    - 5 ml de peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- **Digestión:** Calentar durante 50 min a 420 °C
- **Enfriamiento:** dejar enfriar los tubos de ensayo a 50-60 °C
- **Destilación-titulación:** Colocar en posición la probeta con la muestra digerida en la unidad UDK149
- **Factor 6:25**
- **Reactivos adicionales**
    - Agua destilada: 50 ml
    - H3BO3 : 30 ml
    - NaOH: 50 ml
    - Valorante: HCl 0.2N
    - **Tiempo de destilación: 3 min**
    - **Steam power: 100%**

(Association of Official Analytical Chemist, 2000). AOAC, "Official methods of analysis", method 984. 13