



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**LIXIVIACIÓN DE PROTEÍNAS EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA  
CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) EN RESPUESTA AL pH  
DEL AGUA.**

**DUARTE RODRIGUEZ GREGORY ANDRE  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA  
2022**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**LIXIVIACIÓN DE PROTEÍNAS EN ALIMENTOS  
BALANCEADOS PARA CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus  
vannamei*) EN RESPUESTA AL pH DEL AGUA.**

**DUARTE RODRIGUEZ GREGORY ANDRE  
INGENIERO ACUICOLA**

**MACHALA  
2022**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**LIXIVIACIÓN DE PROTEÍNAS EN ALIMENTOS  
BALANCEADOS PARA CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus  
vannamei*) EN RESPUESTA AL pH DEL AGUA.**

**DUARTE RODRIGUEZ GREGORY ANDRE  
INGENIERO ACUICOLA**

**SANTACRUZ REYES ROBERTO ADRIAN**

**MACHALA  
2022**

## tesisfinal\_Duarte

### INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

4%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
2	<a href="https://repositorio.lamolina.edu.pe">repositorio.lamolina.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
3	<a href="https://ri.ues.edu.sv">ri.ues.edu.sv</a> Fuente de Internet	<1 %
4	<a href="https://repositorio.ug.edu.ec">repositorio.ug.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
5	<a href="https://www.aquahoy.com">www.aquahoy.com</a> Fuente de Internet	<1 %
6	<a href="https://www.iiap.org.pe">www.iiap.org.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
7	<a href="https://worldwidescience.org">worldwidescience.org</a> Fuente de Internet	<1 %
8	<a href="https://www.scielo.cl">www.scielo.cl</a> Fuente de Internet	<1 %
9	<a href="https://www.inifap.gob.mx">www.inifap.gob.mx</a> Fuente de Internet	<1 %



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

El que suscribe, DUARTE RODRIGUEZ GREGORY ANDRE, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado LIXIVIACIÓN DE PROTEÍNAS EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) EN RESPUESTA AL pH DEL AGUA., 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 disposiciones 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.



DUARTE RODRIGUEZ GREGORY ANDRE

2300335300

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero dar gracias principalmente a Dios y a mi familia, ya que han sido mi apoyo fundamental desde que inicié mi preparación académica, siempre estuvieron al pendiente de mí, y a pesar de la distancia siempre me sentí acompañado de ellos.

Por otra parte, quiero agradecer a cada uno de los docentes que hicieron parte de este proceso, desde el primer día que inicié clases, pues sus conocimientos me han servido mucho en el ámbito académico y laboral.

Para finalizar, expreso mi gratitud al tutor de esta obra, el Dr. Roberto Santacruz Reyes, por ser guía fundamental en el desarrollo del presente trabajo, así mismo agradezco al Ing. Irán Rodríguez y a cada uno de los especialistas que tuvieron una participación fundamental en mi trabajo, gracias a su ayuda y comprensión logré superar los obstáculos que se presentaron en el camino. De la misma forma, agradezco al Ing. Carlos Pezo, encargado del Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, gracias a su ayuda logré realizar el proceso experimental evitando errores para producir un trabajo de calidad.

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada a Dios por brindarme voluntad de superación cada vez que se presentaban obstáculos, a mis padres por ser los pilares fundamentales en mi vida e inculcarme hábitos de bien, a mis hermanos por preocuparse siempre por mi bienestar y a todos mis familiares y amigos cercanos, gracias a ellos logré cumplir con satisfacción esta etapa académica, pues sin su ayuda y sus mensajes de ánimos que recibía constantemente desde que inicié mis estudios superiores hasta la presente fecha no lo habría logrado, por lo que me enorgullece mucho poder decir que dedico el fruto de mi esfuerzo para ellos, gracias por creer en mí y en mi capacidad siempre.

## RESUMEN

El cultivo de camarón blanco es uno de los principales recursos económicos de origen acuícola del mundo, y en nuestro país es el segundo recurso más importante después del petróleo. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del pH del agua y el tiempo de inmersión en la lixiviación de proteínas en muestras de alimento balanceado comercial para camarón blanco, y a su vez determinar si la combinación de estos tiene un efecto en el contenido de proteína. Se empleó un experimento factorial completamente al azar (EFCA), con tres tratamientos de pH (7, 8 y 9) y tres tiempos de inmersión (60 min, 120 min y 360 min), se utilizaron 27 unidades experimentales de 1 litro de capacidad a las que se adicionó 1 litro de agua marina filtrada y 4g de alimento balanceado comercial peletizado de 2.0 mm de 32% de proteína. Las muestras fueron sumergidas en cada unidad experimental para cumplir con el período de tiempo establecido, luego fueron retiradas, y secadas en estufa a 105°C durante 24h, para finalmente realizar el análisis de proteínas mediante el Método Kjeldahl. Los resultados obtenidos indicaron que entre los tratamientos de pH no existió diferencia significativa ( $P > 0,05$ ), sin embargo, los resultados obtenidos para el tiempo de inmersión mostraron una diferencia estadística significativa ( $P < 0,05$ ), en el período de 60 minutos se obtuvo el menor porcentaje de proteína lixiviada (9,17%), mientras que en el período de 360 minutos se registró el mayor porcentaje de proteína lixiviada (16,01%). Se realizó un análisis del efecto de interacción entre los niveles de pH del agua y los diversos tiempos de inmersión, donde se comprobó que la mejor combinación fue cuando existe un nivel de pH de 9 y un período de inmersión de 60 minutos, ya que se obtuvo un contenido de proteínas en el alimento balanceado de 30,1% y un porcentaje de proteína lixiviada de 5,73%. Se concluye que el contenido de proteínas lixiviadas en el alimento balanceado para camarón no está influenciado por el pH, sin embargo, el tiempo de inmersión sí provoca un efecto en el contenido de estas, de manera que mientras mayor sea el tiempo en el que el pienso alimenticio permanezca sumergido en el agua, mayor será la cantidad de proteína lixiviada.

**Palabras clave:** Lixiviación de proteína, pH, método Kjeldahl, tiempo de inmersión, alimento balanceado.



## ABSTRACT

White shrimp farming is one of the main economic resources of aquaculture origin in the world, and in our country it is the second most important resource after oil. The objective of this work is to evaluate the effect of water pH and immersion time on protein leaching in samples of commercial balanced feed for white shrimp, and in turn determine if the combination of these has an effect on protein content. A completely randomized factorial experiment (EFCA) was used, with three pH treatments (7, 8 and 9) and three immersion times (60 min, 120 min and 360 min), 27 experimental units of 1 liter capacity were used. to which 1 liter of filtered seawater and 4g of 2.0 mm pelletized commercial balanced feed with 32% protein were added. The samples were immersed in each experimental unit to comply with the established period of time, then they were withdrawn and dried in an oven at 105°C for 24h, to finally carry out the protein analysis using the Kjeldahl Method. The results obtained indicated that between the pH treatments there was no significant difference (P 0.05), however, the results obtained for the immersion time showed a significant statistical difference (P 0.05), in the period of 60 minutes the lowest percentage of leached protein was obtained (9.17%), while in the 360 minute period the highest percentage of leached protein was obtained (16.01%). An analysis of the interaction effect between the pH levels of the water and the various immersion times was carried out, where it was found that the best combination was when there is a pH level of 9 and an immersion period of 60 minutes, since obtained a protein content in the balanced feed of 30.1% and a percentage of leached protein of 5.73%. It is concluded that the content of leached proteins in the balanced feed for shrimp is not influenced by the pH, however, the immersion time does cause an effect on the content of these, so that the longer the time in which the I think that it will remain submerged in the water, the greater the amount of protein leached..

**Keywords:** Protein leaching, pH, Kjeldahl method, immersion time, balanced feed.

# ÍNDICE

Pág.

<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	I
<b>DEDICATORIA</b> .....	II
<b>RESUMEN</b> .....	III
<b>ABSTRACT</b> .....	IV
<b>1. Introducción</b> .....	- 9 -
<b>2. Planteamiento del problema</b> .....	- 11 -
<b>3. Justificación</b> .....	- 12 -
<b>4. Objetivos</b> .....	- 13 -
<b>4.1. Objetivo general</b> .....	- 13 -
<b>4.2. Objetivos específicos</b> .....	- 13 -
<b>5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	- 14 -
<b>5.1. Camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)</b> .....	- 14 -
<b>5.2. Clasificación Taxonómica</b> .....	- 14 -
<b>5.3. Ciclo de vida</b> .....	- 14 -
<b>5.4. Sistema digestivo</b> .....	- 16 -
<b>5.5. Sistema nervioso central</b> .....	- 17 -
<b>5.5.1. Quimo receptores</b> .....	- 17 -
<b>5.6. Hábitos alimenticios</b> .....	- 17 -
<b>5.7. Alimento artificial</b> .....	- 18 -
<b>5.7.1. Procesamiento del alimento balanceado</b> .....	- 19 -
<b>5.7.2. Hidroestabilidad</b> .....	- 20 -
<b>5.7.3. Atractabilidad</b> .....	- 20 -
<b>5.7.4. Granulometría</b> .....	- 21 -
<b>5.7.5. Aglutinantes</b> .....	- 21 -
<b>5.7.6. Velocidad de hundimiento</b> .....	- 21 -
<b>5.7.7. Densidad aparente (Da)</b> .....	- 22 -
<b>5.8. Proteínas</b> .....	- 22 -
<b>5.8.1. Desnaturalización de proteínas</b> .....	- 23 -
<b>5.9. Lixiviación</b> .....	- 23 -
<b>5.10. Potencial de Hidrógeno (pH) en el agua</b> .....	- 24 -

5.11.	Método de Kjeldahl .....	- 25 -
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	- 26 -
6.1.	Materiales y Equipos.....	- 26 -
6.2.	Metodología.....	- 27 -
6.2.1.	Ubicación del área experimental .....	- 27 -
6.2.2.	Diseño Experimental .....	- 28 -
6.2.3.	Modelo Matemático .....	- 29 -
6.2.4.	Muestras de alimento balanceado .....	- 30 -
6.2.5.	Muestras de agua .....	- 31 -
6.2.6.	Buffer de pH.....	- 31 -
6.2.7.	Preparación de muestras para el análisis.....	- 32 -
6.2.8.	Método Kjeldahl .....	- 33 -
6.2.9.	Variables a medir.....	- 33 -
6.2.10.	Procesamiento estadístico .....	- 33 -
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	- 35 -
7.1.	Potencial de hidrógeno (pH) .....	- 35 -
7.2.	Tiempo de inmersión.....	- 37 -
7.3.	Interacción pH y tiempo de inmersión .....	- 39 -
8.	CONCLUSIÓN.....	- 42 -
9.	RECOMENDACIONES.....	- 43 -
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	- 44 -
11.	ANEXOS .....	- 50 -
	<b>Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteínas en alimentos para animales</b> .....	- 51 -
	<b>Muestra</b> .....	- 51 -
	<b>Reactivos para digestión</b> .....	- 51 -
	<b>Digestión</b> .....	- 51 -
	<b>Enfriamiento</b> .....	- 51 -
	<b>Destilación - titulación</b> .....	- 51 -
	<b>Adición de reactivos</b> .....	- 51 -

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Prueba de efecto intergrupos para la variable pH del agua en el contenido de proteínas en el alimento balanceado. ....	- 36 -
<b>Tabla 2.</b> Prueba de efecto intergrupos para la variable tiempo de inmersión en el contenido de proteínas en el alimento balanceado. ....	- 38 -
<b>Tabla 3.</b> Prueba de efecto intergrupos para la variable factor combinado en el contenido de proteínas en el alimento balanceado. ....	- 41 -

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Ciclo vital del camarón blanco ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	- 16 -
<b>Figura 2.</b> Ubicación del laboratorio para el desarrollo experimental.....	- 28 -
<b>Figura 3.</b> Croquis del Experimento Factorial Completamente al Azar utilizado.....	- 29 -
<b>Figura 4.</b> Ficha técnica del Hidróxido de Calcio.....	- 32 -
<b>Figura 5.</b> Efecto del pH del agua sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco.....	- 35 -
<b>Figura 6.</b> Efecto del tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco.....	- 37 -
<b>Figura 7.</b> Efecto del pH del agua y tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco. ....	- 40 -

## 1. Introducción

En nuestro país, la camaronicultura dio inicio en los años 70, específicamente en el cantón Santa Rosa, provincia de El Oro. Hoy en día, el Ecuador cuenta con alrededor de 220.000 hectáreas dedicadas al cultivo de camarón, lo cual ubica a dicho recurso como el primero no petrolero y el segundo en la lista de los que mayores ingresos generan al país. El *Litopenaeus vanammei* (camarón blanco del pacífico) es el crustáceo más utilizado en la camaronicultura, debido a que posee cualidades que facilitan su cultivo en acuicultura, como por ejemplo; resiste condiciones de hacinamiento, es una especie eurihalina, resistente a enfermedades, conversión alimenticia y la tasa de supervivencia.

Como producto de la producción de camarón, la industria acuícola puede proveer de un recurso de calidad con un valor nutricional elevado para mantener los requerimientos de la seguridad alimentaria mundial. Por lo tanto, es necesario que en el cultivo se tomen las precauciones necesarias como el monitoreo, control y adecuación de los procesos inmersos en la producción del mismo, cabe recalcar la valiosa participación de los avances científicos y tecnológicos, con los cuales se logran mejorar técnicas y procesos. En este sentido, es necesario tener en claro que el uso de alimentos balanceados refleja el 55 y 75% de los costos resultantes del proceso de producción, de modo que, se debe garantizar que el uso del alimento sea lo más eficiente posible, para de esa forma satisfacer los requerimientos nutricionales de los animales en cultivo.

Gracias a la acción de la ciencia en tecnología de alimentos y a la ciencia nutricional, tenemos el uso de los alimentos balanceados, los cuales suministran los requerimientos indispensables para el desarrollo de una correcta respuesta inmune, crecimiento óptimo y funciones de mantenimiento del animal. Por ello, la producción de dieta artificial requiere ingredientes específicos que mantengan un valor nutricional adecuado y puedan ser suministrados en forma de alimento en los cultivos, sin dejar de lado las especificaciones higiénicas, nutricionales y de calidad de los mismos.

Los alimentos balanceados pueden variar de acuerdo a la especie que se esté cultivando, y sus propiedades físicas, químicas y biológicas son distintas, por ende, las tecnologías de procesamiento y calidad también difieren, sin embargo, todos están enfocados en incrementar los rendimientos de producción en un cultivo, esto gracias a que pueden



lograr una tasa de conversión alimenticia más baja y el mantenimiento de animales más sanos.

Los alimentos balanceados son desarrollados a partir del tipo de especie, teniendo en cuenta los parámetros físico-químicos del ambiente en el que esta se desarrolla, el potencial de hidrógeno (pH) es uno de los más principales, gracias a este parámetro podemos saber si el agua de un estanque es ácida o básica, en un rango de 0 a 14, en dónde niveles menores a 7 indican la presencia de aguas ácidas y niveles mayores a 7 la presencia de aguas básicas, mientras que 7 es el indicador del nivel neutro. El pH interviene en procesos metabólicos de los organismos acuáticos, ya que en niveles fuera del rango óptimo de la especie puede crear estrés, el mismo que genera susceptibilidad a enfermedades, disminuir las tasas de crecimiento y en los peores casos, causa la muerte, es necesario tener en cuenta que el pH fluctúa del día a la noche, volviéndose más ácido en la noche y más básico en el día.

Entre los componentes del alimento balanceado, el principal recurso son las proteínas, las cuáles son importantes moléculas que se forman a partir de una o más cadenas largas de aminoácidos y cumplen con varias funciones fisiológicas en el organismo, de acuerdo al estadio vital del animal, tienen un mayor o menor porcentaje de concentración en el alimento balanceado a fin de satisfacer las necesidades nutricionales del animal. Cuando el pellet está sumergido en el agua, empieza el proceso de lixiviación, el cual consiste en la separación de sustancias contenidas en una masa sólida mediante el uso de un disolvente.

El pH del agua influye directamente en las propiedades de solubilidad y desnaturalización de las proteínas, por lo que, si se encuentra en concentraciones fuera del rango óptimo, se podría facilitar los procesos mencionados, con lo que el animal no obtendría el beneficio esperado por el consumo de alimento.

## **2. Planteamiento del problema**

La posibilidad de incrementar las densidades de siembra en el cultivo de camarón es posible gracias al uso de los alimentos artificiales, los cuales son formulados en función de la especie y de la etapa de vida, optimizando el rendimiento y enfocándose a lograr un contenido adecuado de nutrientes, características físicas como la textura, forma y tamaño, características de palatabilidad, digestibilidad, hidroestabilidad, las cuales son de vital importancia debido a que el alimento balanceado es para organismos bentónicos y necesita estar sumergido en el agua sin afectar la estructura del pellet.

El nivel del efecto causado por el proceso de lixiviación en un ambiente acuático, está relacionado al tipo de nutrientes que se pierden, y también existe una influencia por parte de las estrategias de alimentación que se lleven a cabo, entre ellas la frecuencia y la cantidad de alimento proporcionadas. Dicho proceso de lixiviación puede generar un fuerte impacto en el rendimiento del organismo, si el animal consume un alimento que ha sufrido cambios en el contenido de proteínas, además de ello se busca encontrar si el pH del agua tiene una influencia directa en el aumento de lixiviación del pienso alimenticio.

El proceso de lixiviación se ve influenciado por los tipos de componentes del pellet y también por las técnicas de alimentación usadas. Es preocupante el tema de la lixiviación de las proteínas, y vale la pena investigar si el pH del agua incide en el rendimiento del alimento, ya que si el animal consume alimento que no contiene el porcentaje de proteínas adecuado, tendría problemas en las funciones metabólicas que se desarrollan.

### **3. Justificación**

En la actualidad la industria acuícola está creciendo de forma acelerada para tratar de satisfacer las necesidades alimenticias de la sociedad, por lo que la tecnificación es parte fundamental para mejorar los métodos de cultivo, también es necesario el uso de alimento balanceado en las dietas del camarón blanco, las cuales representan un porcentaje que se ve reflejado en el mayor gasto económico al final del cultivo. En densidades elevadas de siembra, el sistema en el que los organismos habitan no puede proveer de forma natural los requerimientos nutricionales que el animal necesita para cumplir con sus funciones biológicas, haciendo necesario el uso de alimentos artificiales que aporten con los nutrientes primordiales para el desarrollo óptimo del animal.

De esta manera, en el presente trabajo es importante evaluar el porcentaje de lixiviación de proteínas en el alimento artificial en razón del pH del agua en un estanque de producción para lograr alimentar de forma eficaz al animal y lograr obtener la mayor rentabilidad económica posible para que de ese modo la camaronicultura sea rentable para el productor.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto combinado e individual del pH del agua y el tiempo de inmersión en la lixiviación de proteínas en muestras de alimento balanceado para camarón blanco.

### **4.2. Objetivos específicos**

Determinar el efecto de interacción pH del agua y tiempo de inmersión en la tasa de lixiviación de proteínas en muestras de alimento balanceado comercial.

Demostrar la influencia del tiempo de inmersión en el agua para la lixiviación de proteínas del alimento balanceado.

Determinar el rango de pH y su efecto en la lixiviación de proteínas en los alimentos balanceados.

## 5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 5.1. Camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

El camarón blanco del Pacífico posee sus sentidos visuales muy pobres, así que estos crustáceos utilizan otro tipo de sentidos para reconocer su hábitat, entre ellos el sentido del tacto, que lo conforman los apéndices quimiorreceptores como el flagelo antenal, lo cual permita al animal encontrar el alimento y distinguir la estructura y la consistencia física del alimento, es decir, si es de textura suave o dura. El sentido del gusto, que se manifiesta a través de los quimiorreceptores que se encuentran en los pereiópodos, específicamente en las cerdas interiores en sus quelas, gracias a ello el animal puede seleccionar que alimento ingerir (palatabilidad), así mismo el animal utiliza el sentido del olfato mediante los quimiorreceptores en las anténulas (Villarreal-Cavazos et al., 2017).

### 5.2. Clasificación Taxonómica

De acuerdo a la información descrita por Farfante et al., (1997)., se planteó la siguiente clasificación taxonómica para el camarón blanco.

<b>Reino</b>	Animalia
<b>Filo</b>	Arthropoda
<b>Clase</b>	Malacostraca
<b>Orden</b>	Decapoda
<b>Familia</b>	Penaeidae
<b>Género</b>	<i>Litopenaeus</i>
<b>Especie</b>	<i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone, 1931)

### 5.3. Ciclo de vida

El ciclo biológico del *Litopenaeus vannamei*, está distribuido por 6 fases larvarias específicas, como podemos observar en la Figura 1.

**Nauplio**, es el primer estadio y el organismo presenta fototactismo positivo con estructura corporal periforme, miden de 0.40 a 0.61 mm, posee únicamente 3 pares de apéndices que cumplen con la capacidad de natación. Además, el nauplio consume las reservas de su saco vitelino y no obtiene alimentos externos, presenta 5 sub estadios en un período de alrededor de 42 horas hasta alcanzar la etapa larval (Ponce-Palafox et al., 1997).

**Protozoa**, en esta etapa se forma un característico cuerpo que se divide en dos zonas; el cefalotórax y el abdomen o pleon, miden de 1 a 2.7 mm. Presenta órganos de locomotores; antenas y anténulas, sus movimientos son verticales. Aparecen ojos compuestos y el telson es espatulado, se presentan 3 sub estadios, y los urópodos aparecen en la última fase (Cedeño, 2019).

**Mysis**, en esta fase, las larvas son similares a un camarón adulto, miden de 3.4 a 5 mm. Se compone de 3 sub estadios. Una característica de esta fase es que al momento de nadar, lo hacen de cabeza en pequeños brincos, esto debido a que el cefalotórax tiene un desarrollo mayor al de la cola y los pleópodos aún no están completamente formados. Este estadio dura alrededor de 5 a 6 días (Morán, 2017).

**Postlarva**, es la terminación del proceso de metamorfosis y el organismo es semejante a un camarón adulto, con excepción de los órganos reproductores y el rostro. Es muy común la llegada de la postlarva a las costas para consumir una gran diversidad de alimentos, así mismo, encuentra refugio para protección contra depredadores. Mide entre 7 a 11 mm y cuando llega a la etapa de juvenil, regresa a mar abierto. Cuando han transcurrido entre 4 a 6 días de fase postlarval, los organismos son planctónicos y en las siguientes etapas cambian a un hábito demersal. Si el animal se encuentra en buenas condiciones y recibe el alimento necesario, los procesos de muda son a diario (Cedeño, 2019).

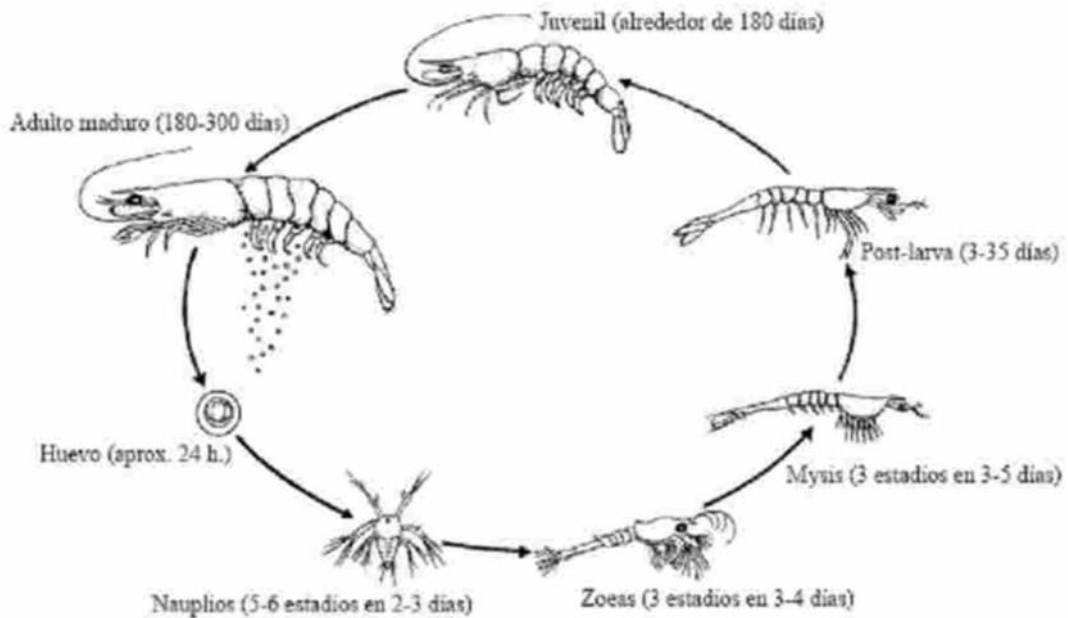
**Juvenil**, en esta etapa el camarón es pequeño en comparación a su fase adulta, mide entre 60 y 70 mm de largo, su coloración es translúcida, aún no presenta una espina rostral con el número definitivo de dientes, sus órganos ya están completamente desarrollados y funcionales, excepto los encargados de la reproducción (Boschi & Scelzo, 2019).

**Adulto**, en esta etapa el animal tiene todos sus órganos funcionales, posee un cuerpo alargado y se divide en 3 regiones; cefalotórax que está compuesto por pereiópodos, antenas, anténulas y rostro, el abdomen está compuesto por de 6 segmentos abdominales y pleópodos, y la cola donde se encuentran los urópodos y el telson. El animal se torna de



una coloración blanca translúcida con tonos amarillentos, aunque en órganos como las antenas, los pereiópodos y urópodos presentan tonalidades rojizas (Dávila et al., 2013).

**Figura 1.** Ciclo vital del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).



Fuente: Tomado de King, 1968.

#### 5.4. Sistema digestivo

Debido a que los camarones peneidos poseen un gran interés comercial en la acuicultura, diversos estudios sobre su sistema digestivo se han desarrollado, aunque se ha tratado de mejorar la producción con la aplicación de este conocimiento, no ha sido posible avanzar al mismo ritmo. El sistema digestivo de estos animales se divide de forma general en 5 partes; empezando por la boca, esófago y estómago, para continuar con el hepatopáncreas, que es la glándula digestiva del tracto intestinal, y finalmente el intestino que se divide en intestino anterior, medio y posterior. El tracto intestinal de los crustáceos cumple con funciones específicas como son la ingesta y transporte de alimentos, proceso de digestión, absorción, reserva y transporte de nutrientes por medio del sistema vascular y para finalizar el ciclo, se desarrolla el proceso de excreción al medio (Ceccaldi, 1997, como se citó en Ayala, 2014).

## **5.5. Sistema nervioso central**

Se distribuye ventralmente en el tórax y abdomen, está compuesto por ganglios metamerizados (García et al., 2020).

Además, este sistema es el encargado de proporcionar una respuesta inmediata en situaciones de peligro o amenaza hacia el organismo o una disrupción de la homeostasis del animal (Albines, 2019).

### **5.5.1. Quimo receptores**

Es el conjunto de funciones con funciones de localización de alimentos y parejas, detección de posibles depredadores y localización de organismos de la misma especie que hayan mantenido un contacto anterior con el animal (Schmidt & Mellon, 2010).

**Sentido químico distribuido**, este sentido se desarrolla gracias al uso de sensillas quimio receptoras, las mismas que están distribuidas en las antenas y anténulas, en apéndices bucales; maxilípedos, maxilas y mandíbulas y para finalizar en los pereiópodos como las quelas, dactilopoditos y propoditos (Schmidt & Mellon, 2010).

**Olfato**, este sentido se lleva a cabo de estetascos, los cuales son vellos localizados en la zona ventral de los flagelos externos de las anténulas de los decápodos (Schmidt & Mellon, 2010).

Los quimiorreceptores tienen una relación directa con las propiedades de atractabilidad y palatabilidad de los alimentos balanceados comerciales, estos órganos tienen la capacidad de distinguir varios tipos de químicos, por lo que el camarón es capaz de decidir qué alimento puede ser consumido o rechazado, así como el tiempo de exposición que el animal puede tener junto al alimento. En la formulación del alimento, se emplean diversos ingredientes que producen un mayor consumo del pellet, influyendo directamente en los órganos sensoriales del animal, por lo que crean estímulos en el animal para iniciar con la excitación, búsqueda, localización, palatabilidad y consumo del alimento (Villarreal-Cavazos et al., 2017).

## **5.6. Hábitos alimenticios**

Debido a que la alimentación en la producción de camarón blanco cambia de acuerdo a la etapa de vida del organismo y con ello sus requerimientos nutricionales, el consumo de

alimentos se vuelve un poco complejo, por lo que se necesita elegir ingredientes específicos para obtener la mayor rentabilidad en el cultivo, que se refleja en tasas de crecimiento, peso y supervivencia adecuadas durante el cultivo (Morales, 2012).

Cuando el animal llega a su etapa de juvenil y adulto, su hábito alimenticio es bentónico, por lo que el alimento balanceado que se le suministre, debe tener la capacidad de sumergirse en la columna de agua y descansar en el fondo, que es donde mayormente el animal busca alimento.

### **5.7. Alimento artificial**

De acuerdo a diversas investigaciones, poco se sabe sobre los nutrientes que necesitan los camarones, debido a la variedad de especies existentes. Sin embargo, la importancia que tiene la proteína hace que sea el ingrediente con mayor participación en el alimento, el cual se usa en concentraciones que van desde el 25% al 45% para la etapa de engorda (De Los Santos, 2019). Aunque hay varios ingredientes que pueden bajar el costo de la producción manteniendo el mismo nivel de rendimiento en cuanto a la disponibilidad de proteínas, como alimentos derivados de carne, huesos y derivados de pollo, no han mostrado rentabilidad en acuicultura, ya que además de contener buenos perfiles nutricionales, deben ser aceptables para los animales (AquaFeed , 2015).

La mejor herramienta de alimentación que tiene el productor en la actualidad es el uso de alimentos artificiales ricos en proteínas, los cuales benefician mucho a los cultivos en cuanto a la disponibilidad de aminoácidos para los organismos, los cuales no pueden ser aprovechados directo del medio natural (Eras-Agila & Meleán-Romero, 2021). Cuando el animal consume el alimento, se genera un proceso biológico llamado hidrólisis enzimática, la cual tiene como objetivo generar cadenas de aminoácidos de menor tamaño, produciendo de esa manera una concentración elevada de péptidos bioactivos, tasa de palatabilidad, reducción del material mineral y los aminoácidos que satisfacen los requerimientos del animal de manera eficaz (AQUAHOY, 2018).

De acuerdo a la calidad y el porcentaje de aminoácidos esenciales que contenga la fuente de proteínas en la dieta artificial, la síntesis en los tejidos será mayor (González et al., 2007).

### **5.7.1. Procesamiento del alimento balanceado**

La peletización y extrusión son técnicas usadas para el tratamiento térmico de alimentos, son una serie de innovaciones eficientes que mediante el uso del tratamiento físico a temperaturas elevadas y períodos cortos de tiempo, son ampliamente usadas en el procesamiento de granos (Zhang et al., 2019). Dichos procesos tienen la capacidad de reducir el contenido microbiano, activación enzimática, incrementar el porcentaje de solubilidad de fibra dietaria, el proceso de oxidación lipídica, la desnaturalización proteica y la conversión de almidón (Glencross et al., 2011, como se citó en Kamalam et al., 2017). Además, se favorece la aglutinación de los ingredientes dando como resultado una mayor homogeneidad en la dieta, esto gracias a que durante el proceso de peletización se desarrolla la gelatinización del almidón (Honorato et al., 2015).

#### **5.7.1.1. Proceso de Peletizado**

La mezcla de materias primas que se encuentran almacenadas en las tolvas, son transportadas y depositadas en el acondicionador-mezclador, donde el vapor es agregado con el fin de pre-gelatinizar la harina para que se incrementa la digestibilidad y el rendimiento de la dieta. Después, la harina que ha sido pre-cocida se incorpora en la sección de prensado, donde por efecto mecánico de fricción y presión, es forzada a pasar a través del molde, formando de esa manera los pellets (Cai et al., 2022). Los pellets que salen del molde, son muy calientes, por lo que deben ser enfriados con sistemas de aire en contra flujo, y finalmente transportados hacia una zaranda que los clasifica. Los pellets que han sido aceptados, son depositados en la tolva del producto completado (Díaz et al., 2021)

#### **5.7.1.2. Proceso de Extrusión**

En este proceso toda la harina es depositada en una tolva donde se extrae mediante tornillos sin fin hasta el acondicionador-mezclador, donde se incorpora agua y vapor, con la finalidad de pre gelatinizarla. A continuación, la harina es llevada hasta el tornillo extrusor, donde gracias a la incorporación de agua y vapor para lograr una temperatura y presión óptimas, la harina es gelatinizada al pasar a través de tornillos de alta fricción, con lo cual se garantiza una cocción correcta y la reducción de cargas microbianas (Delgado et al., 2021).

Gracias al uso de dados de extrusión, se obtienen tamaños, formas y densidades para los pellets (Hoyos-Concha et al., 2022).

### **5.7.2. Hidroestabilidad**

Es un parámetro de calidad de suma importancia en el proceso de elaboración de dietas artificiales en la acuicultura. El parámetro de hidroestabilidad se denomina a la contención de la estructura física del gránulo de alimento, con un porcentaje de desarticulación y de lixiviación de nutrientes mínimos a la vez que el alimento se encuentre en inmersión hasta que sea localizado y consumido por el organismo. Cuando el alimento balanceado presenta una estabilidad baja en los pellets sumergidos en la columna de agua, el consumo alimenticio es afectado, por ende, este problema se ve reflejado en la tasa de crecimiento específico de la especie en cultivo, de la misma manera, la tasa de conversión alimenticia se ve alterada, en conjunto con los costos económicos (Hoyos et al., 2017).

También es importante recalcar que cuando el alimento se queda en el fondo y no es consumido por los organismos, se degrada a causa de la intervención de bacterias anaeróbicas, formando compuestos tóxicos como el amonio y el nitrito, por lo que la calidad del agua es afectada directamente (Mirabent, 2019).

### **5.7.3. Atractabilidad**

Los organismos acuáticos responden al proceso de alimentación por medio de comportamientos estimulados por varios sentidos, el más común es el olfato (Pereira da Silva y Pezzato, 2000, como se citó en Hattori et al., 2021). Los atrayentes (aromas atractivos) son sustancias químicas que atraen a los órganos receptores del olfato y permiten que los organismos encuentren comida rápidamente (Alvarez et al., 2004, como se citó en Montoya-Martínez et al., 2016).

La atractabilidad es la periodicidad de visitas al comedero cuando los organismos reciben dos dietas diferentes. Cuanto mayor sea el índice, mayor será la atractabilidad que presente el alimento (Mirabent, 2019).

#### **5.7.4. Granulometría**

En cuanto al tamaño de partícula, a menudo se considera un factor en el manejo de una dieta equilibrada, aunque parece ser una característica física. Si observamos el alimento, si nos centramos en el tamaño, puede variar desde el tamaño más pequeño, que suele ser inferior a los 50  $\mu\text{m}$ , sobre todo si hablamos de alimento para los estadios larvarios, para maduración su tamaño es de aproximadamente 1/8 de pulgada total de su diámetro, pero en su mayoría 3/32 de su diámetro total. Por lo tanto, la mayoría de los tamaños para la granulometría suelen obtenerse a partir de este diámetro (Arreaga, 2020).

Para producir partículas pequeñas, el tamaño es de 0,5 mm, el tamaño mediano es de 1,0 mm y el tamaño grande es de aproximadamente 2,0 mm, al mismo tiempo, significa el rompimiento de pellets de 3/32 usando una herramienta llamada tambor que fractura (Fox et al., 2014).

#### **5.7.5. Aglutinantes**

Los aglutinantes que componen la matriz deberían ayudar a aumentar el contacto entre las diferentes partes del compost. Esto se puede lograr por factores físicos o químicos. Entre las propiedades físicas se encuentra un cambio en los parámetros reológicos del medio, entre ellos, un aumento de la viscosidad al combinar moléculas como las proteínas, gomas, almidón, los sólidos solubles y los derivados de celulosas (Sørensen et al., 2010, como se citó en Turchini et al., 2018).

Dependiendo de factores químicos, moléculas o ciertas sustancias como proteínas, melazas (altas en glucosa y fructosa) y carbonato de calcio (Oterhals & Samuelsen, 2015).

#### **5.7.6. Velocidad de hundimiento**

Este parámetro hace referencia al tiempo que tarda cada pellet en recorrer una cierta distancia vertical en el cuerpo de agua a diferentes condiciones controladas de temperatura y salinidad. Para realizar esta prueba, los pellets se seleccionan al azar y los datos se dan en cm/s (Sørensen, 2012, como se citó en Samuelsen & Oterhals, 2015). En general, los elementos que afectan a la velocidad de hundimiento son de origen estructural, entre ellos la porosidad y expansión de los gránulos, lo que afecta también a la densidad aparente.



En este sentido, el tratamiento térmico en el procesamiento cumple un rol fundamental. Las proteínas y los almidones de los alimentos se someten a diferentes etapas de gelatinización y coagulación, según la intensidad en que se desarrolle el tratamiento térmico. Cuando el procesamiento presenta niveles bajos de temperatura, presión y el tiempo aplicado, menor será la conversión de moléculas más grandes y menor la longitud de las partículas, lo que dará como resultado una mayor velocidad de hundimiento (Øverland et al., 2007, como se citó en Ma et al., 2022). Para lograr una velocidad de hundimiento lenta, la densidad debe ser de aproximadamente 520 g/l y recubrimiento lipídico (Zhang et al., 2012).

#### **5.7.7. Densidad aparente (Da)**

La densidad aparente es de suma importancia, pues gracias a ella es posible manipular el índice de flotabilidad y la velocidad de hundimiento, además tiene estrecha relación al parámetro de expansión durante el procesamiento de extrusión. La macromolécula más importante en este parámetro es el almidón (Sørensen, 2012).

#### **5.8. Proteínas**

Las proteínas también son el grupo químico que representan la mayor presencia en los organismos, ya que al formar parte de los órganos internos y tejidos musculares ocupan un porcentaje del peso seco del camarón de alrededor del 70%, además los niveles de proteína necesarios para el camarón blanco varían de acuerdo al estadio (Ordoñez, 2020). En las dietas alimenticias para camarones, es necesario que contengan una fuente de proteína con un balance óptimo de aminoácidos que proporcionen un rendimiento adecuado de crecimiento (Soares et al., 2020).

La proteína, es el componente más crucial en la fabricación de piensos alimenticios para crustáceos, repercute en el costo económico y en la respuesta de crecimiento del animal (Terrazas et al., 2010). En el procesamiento de dietas artificiales para acuicultura, se suelen utilizar proteínas animales, ya que son una buena fuente de ácidos grasos y aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales y potenciadores del sabor en general (Galindo et al., 2009, como se citó en Ulloa-Zaila et al., 2021).

Las proteínas aportan al alimento un gran contenido nutricional, es por ello que es uno de los componentes que más costos representan en el uso de la dieta, aunque para la

fabricación de dietas alimenticias artificiales para crustáceos varía de acuerdo a la especie y a las características de hábitat, es común que los niveles de proteína contenidos en el alimento sean elevados.

Por lo tanto, es importante comprender y utilizar materias primas vegetales para reemplazar la harina de pescado. También se debe tener en cuenta que la sustitución de este alimento es importante no solo para reducir los gastos económicos de producción, sino también por factores ambientales, con lo cual se reduce el impacto que genera el arte de pesca y el impacto negativo en los recursos marinos (Faillace et al., 2016).

Los animales acuáticos como los peces y camarones que son de importancia comercial, necesitan el aporte de proteínas con perfiles de alta digestibilidad en cantidad y calidad. La ganancia de peso en los camarones peneidos tiene una relación directa con el contenido y digestibilidad proteicos, por ejemplo; la cistina, metionina y lisina son los aminoácidos esenciales con mayor importancia en los piensos alimenticios para camarones (Carranza et al., 2018).

#### **5.8.1. Desnaturalización de proteínas**

Una proteína nativa posee una estructura tridimensional que está especificada mediante la estructura primaria, por lo que tiene un grupo de características básicas. Dicha estructura tridimensional se suele ver afectada por la interacción de procesos en el ambiente, como la desnaturalización (Carrillo, 2014).

Tello-Solis & Hernandez-Arana (1995, cómo se citó en Cadena-Cadena et al., 2019) manifiestan que dicho proceso de desnaturalización puede ser ocasionado por cambios en los rangos de pH, presencia de sales inorgánicas o disolventes orgánicos, fuerza iónica o fluctuaciones de temperatura.

Una de las causas para que suceda la desnaturalización de las proteínas son las variaciones de pH, por lo que es un tema que se debe tener en cuenta al momento de suministrar alimento artificial a los camarones en cultivo (Lara-Espinoza et al., 2015).

#### **5.9. Lixiviación**

El proceso de lixiviación consiste en disolver los componentes hidrosolubles presentes en el alimento artificial en el cuerpo de agua (Delgado & Reyes, 2018). Además, un

indicativo de la calidad del alimento es la tasa de lixiviación (Richter et al., 2020). Es importante tener claro que la deformación del pellet y la consiguiente lixiviación de nutrientes (proteínas), son factores que tienen más importancia en la alimentación de camarones que de otros organismos acuáticos como peces, debido a que por el hábito alimenticio bentónico que tienen estos crustáceos el alimento al ser sumergido en el agua debe tener la suficiente estabilidad para que mantenga su contenido nutricional y siga siendo atractivo para el camarón (Argüello, 2003).

#### **5.10. Potencial de Hidrógeno (pH) en el agua**

El pH indica si el recurso hídrico es ácido o básico en una escala de 0 a 14, por lo tanto, si el agua presenta valores de 7, son consideradas neutras, los valores menores a 7 demuestran que las aguas son ácidas, y cuando los valores son mayores a 7 indican aguas básicas. Los estanques de cultivos en aguas salobres comúnmente tienen un pH de 7 u 8 en las mañanas, pero para la tarde generalmente este se eleva, y alcanza valores que van desde las 8 a 9, dicha fluctuación se da como resultado del proceso de fotosíntesis en los estanques a causa del fitoplancton (Boyd, 2013).

El cambio de pH se lo explica de la siguiente manera, cuando el contenido de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) a causa de la respiración aumenta, los iones de hidrógeno aumentan y el nivel de pH desciende, y viceversa, si las concentraciones de  $\text{CO}_2$  bajan, los iones de hidrógeno disminuyen y el pH del agua se incrementa (Kawamura et al., 2015). Para entenderlo mejor, en el día se realiza el proceso de fotosíntesis por parte del fitoplancton, el cual consume el dióxido de carbono, por lo cual el pH aumenta. En la noche, el fitoplancton y todos los organismos del estanque respiran y producen  $\text{CO}_2$ , a medida que este compuesto aumenta, el pH baja (Wang et al., 2020).

Debido al efecto del pH, la proteína obtiene una carga neta negativa o positiva, lo que provoca la hidratación y repulsión mutua de los residuos cargados, lo que aumenta la solubilidad (Catzín, 2009). Cuando la proteína se encuentra disuelta en el medio, se generan compuestos nitrogenados que afectan la calidad del agua, que a su vez dependen de la interacción entre los parámetros más importantes de un cultivo acuícola, como la alcalinidad, salinidad, temperatura y pH, como lo mencionan Lara-Espinozatell, et al., (2015, como se citó en Robles Porchas et al., 2020). Cuando existen cantidades elevadas

de amonio en el estanque, este genera mayor demanda de oxígeno y disminuye el pH del agua (Boyd et al., 2005).

Los recambios de agua en un cultivo de camarón son de suma importancia respecto al mantenimiento de una buena calidad de agua, ya que, en condiciones de ausencia de recambios de agua, el pH llega a rangos por encima de 9, lo cual genera efectos negativos en los camarones (Martínez et al., 2018).

El potencial de hidrógeno ocupa una participación importante en el desarrollo de complejos con una gran cantidad de iones que están presentes en el agua de mar (Sotelo-Cornejo et al., 2021).

Arias, (2017) expresa que la estabilidad del pH está influenciada por la reserva alcalina o denominado sistema de equilibrio (actúa como tampón) el cual corresponde a la aglomeración de bicarbonato o carbonato. El pH presenta extremos menores a 4 y mayores a 11, los cuales son letales para los organismos acuáticos en cultivo, además es importante mencionar que cambios bruscos en el pH también pueden ocasionar la mortalidad.

#### **5.11. Método de Kjeldahl**

El método de Kjeldahl es una técnica muy común para la determinación de nitrógeno soluble, aunque también se suele utilizar la determinación por espectrofotometría UV o la reacción de Biuret (Guadix et al., 2000).

Este método no distingue entre el nitrógeno originario de proteínas, entre ellas el grupo amida y amino, y el nitrógeno no proteico como la úrea y aminoácidos, que pueden presentar errores en el cálculo, es por ello, que este método se toma como referencia cuando se realizan técnicas distintas (Dergal, 2006).

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Materiales y Equipos**

Alimento balanceado para camarón blanco

Envases de plásticos con tapas de 1 litro (Unidad experimental)

Espátula

Vasos de precipitación 500 ml.

Pera de succión

Pipetas graduadas

Mortero

Papel aluminio

Tijera

Marcadores

Fundas con cierre hermético

Bolígrafos

Calculadora

### **Sustancias**

Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 96%

Ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ) 0.2N

Ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )

Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )

Hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ )

Hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )

Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 35%

Metanol 99%

Rojo de metilo

Agua destilada

Catalizadores

Anti espumantes

Agua marina a 7 pH (30 ppt)

Agua marina a 8 pH (30 ppt)

Agua marina a 9 pH (30 ppt)

## **Equipos**

Estufa MEMMERT

Balanza de precisión Mettler Toledo XP404S

Unidad de digestión automática DKL

Unidad de destilación automática UDK 149

Bureta BOECO DCB 5000

Medidor de pH portátil

## **6.2. Metodología**

Para desarrollar el presente trabajo se siguió la siguiente metodología:

### **6.2.1. Ubicación del área experimental**

El experimento se realizó en los laboratorios de química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Machala, en Machala, El Oro, Ecuador. Coordenadas: 3°17'30.9"S 79°54'50.1"W (Figura 2).

**Figura 2.** Ubicación del laboratorio para el desarrollo experimental.



Fuente. Tomado de Google Maps, 2022.

### **6.2.2. Diseño Experimental**

El presente estudio es de tipo experimental, cuyo proceso fue desarrollado en el lapso de 40 días, donde la primera fase fue la de la recolección de la muestra y acondicionamiento de las muestras de agua, la segunda fase comprendió la inmersión del alimento balanceado en los distintos tratamientos, y en la última fase se contempló el análisis de proteína mediante el método de Kjeldahl.

El estudio experimental se desarrolló con la utilización de un Experimento Factorial Completamente al Azar No Fraccionado  $3^2$ , ya que se manipularon dos factores de estudio, el “pH” con 3 tratamientos (T1:7 de pH, T2:8 de pH y T3:9 de pH), y el “intervalo de tiempo” establecido por el investigador (60 min, 120 min y 360 min), formándose 9 combinaciones de tratamientos replicadas 3 veces generando 27 unidades experimentales (frascos de plástico con tapa de 1L de capacidad) con un material y entorno experimental homogéneo (figura 3).

El alimento balanceado comercial utilizado en el experimento contenía un 32% de proteínas.

**Figura 3.** Croquis del Experimento Factorial Completamente al Azar utilizado.

TIEMPO	RÉPLICA 1		
60 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
120 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
360 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)

TIEMPO	RÉPLICA 2		
60 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
120 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
360 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)

TIEMPO	RÉPLICA 3		
60 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
120 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)
360 MIN	T1 (7 pH)	T2 (8 pH)	T3 (9 pH)

### 6.2.3. Modelo Matemático

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

En el cual:

**Y<sub>ijk</sub>**: Es la variable aleatoria medida en el i-ésimo sujeto (repetición), el j-ésimo nivel o versión del FE A y el k-ésimo nivel o versión del FE B.

**μ**: Media general de la VD.

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

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

**( αβ)<sub>jk</sub>**: 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 (variable aleatoria no observable que se supone tiene una distribución normal con media cero y varianza constante).

#### 6.2.4. Muestras de alimento balanceado

El alimento balanceado utilizado en el experimento fue elaborado mediante procesos de peletizado dando como resultado un pellet con un tamaño de 2 mm, a lo cual el fabricante recomienda suministrar en camarones que tengan un peso de 7g en adelante, además está formulado para mostrar eficiencia nutricional en condiciones donde la biomasa del cultivo esté en rangos desde las 7.000 a las 15.000 lb/ha.

De acuerdo a los componentes, el pienso alimenticio está elaborado de tal manera que garantiza un alto nivel de digestibilidad, por lo que se mejora la tasa de crecimiento, además, gracias al proceso de fabricación, la estructura del pellet tiene características benéficas para el cultivo, como una excelente atractabilidad, capacidad de retener la calidad nutritiva del pellet, por ende, la tasa de lixiviación es mínima. Dicha información es otorgada por el fabricante.

**Ingredientes usados en su formulación:** De acuerdo a la etiqueta de información al cliente, el alimento está compuesto por:

<input type="checkbox"/> Proteínas vegetales	<input type="checkbox"/> Fosfato
<input type="checkbox"/> Cereales	<input type="checkbox"/> Premezcla mineral
<input type="checkbox"/> Harina de origen terrestre	<input type="checkbox"/> Levadura hidrolizada
<input type="checkbox"/> Harina de pescado	<input type="checkbox"/> Ácidos orgánicos
<input type="checkbox"/> Sal industrial	<input type="checkbox"/> Aminoácidos
<input type="checkbox"/> Lecitina de soya	<input type="checkbox"/> Premezcla vitamínica
<input type="checkbox"/> Carbonato de calcio	<input type="checkbox"/> Antihongo
<input type="checkbox"/> Aceite vegetal	<input type="checkbox"/> Enzimas
<input type="checkbox"/> Aceite de pescado	<input type="checkbox"/> Antioxidante (BHA).

**Análisis garantizado:** El fabricante declara que el alimento balanceado contiene:

- Proteína (min) 32,0%
- Cenizas (max) 12,0%

- J Humedad (max) 11,0%
- J Grasa (min) 5,0%
- J Fibra (max) 4,0%

**Información adicional:** El alimento fue elaborado en la provincia del Guayas, Ecuador y fue trasladado hasta la provincia de El Oro, Ecuador. El alimento balanceado fue elaborado el 14/06/22 y fue consumido el 21/06/22, es decir, 7 días después de su elaboración. Las muestras de alimento balanceado fueron tomadas de una granja camaronera, el saco se encontraba abierto, ya que estaba siendo utilizado para cebar las tolvas de los alimentadores automáticos en la piscina de cultivo. Para la fase experimental, se tomaron 4g de alimento y fueron depositadas en bolsas de tela de 2mm, previo a la inmersión en las unidades experimentales.

#### **6.2.5. Muestras de agua**

El recurso hídrico necesario para el desarrollo del experimento fue obtenido de un laboratorio de larvas de la ciudad de Machala, provincia de El Oro, donde se recolectó agua marina (30 ppt) previamente filtrada y oxigenada. La cual posteriormente fue depositada en una pecera de vidrio y desinfectada con cloro de uso doméstico, para luego ser oxigenada con la ayuda de bombas tipo venturi y filtros de oxígeno para acuarios, por un lapso de 3 días con la finalidad de volatilizar los residuos de hipoclorito de sodio.

#### **6.2.6. Buffer de pH**

El nivel de pH inicial del agua utilizada en este trabajo fue de 8, dicho rango estaba dentro del nivel necesario para el tratamiento 2, sin embargo, para el tratamiento 1 y 2, fue necesario realizar un ajuste de pH.

##### **6.2.6.1. Rango de pH a 7**


Para acidificar el medio se utilizó ácido acético al 3% (Vinagre comercial), el cual posee rangos de pH de 2.4 - 3.4. Se preparó una solución compuesta por 12,03 ml de ácido acético disuelto en 16000 ml de agua salada, dando como resultado un tampón de 7 de pH.

### 6.2.6.2. Rango de pH a 9

Para elevar una unidad al pH inicial, se utilizó Hidróxido de Calcio comercial al 82.3% (Cal P-24). Se disolvieron 12,3 g de Hidróxido de Calcio en 16000 ml de agua salada, una vez que la solución se ha homogeneizado, se forma un tampón de 9 de pH.

**Figura 4.** Ficha técnica del Hidróxido de Calcio.

DATOS DEL PRODUCTO			
Nombre del Producto	CAL P-24		
Nombre Común	Cal apagada, Cal Hidratada		
Fórmula Química	Ca(OH) <sub>2</sub>		
Nombre Químico	Hidróxido de Calcio		
Registro Sanitario Unificado	No. 5858		



COMPOSICIÓN QUÍMICA			
Oxido de Calcio Aprovechable : (CaO) (ASTM C-25)	60,00	%	Mínimo
Hidróxido de Calcio: Ca(OH) <sub>2</sub> : (CaO x 1.321)	79,00	%	Mínimo

ANÁLISIS TÍPICO			
Oxido de Silicio (SiO <sub>2</sub> )	3,97	%	
Oxido de Aluminio (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,36	%	
Oxido de Hierro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,23	%	
Oxido de Calcio (CaO)	62,4	%	
Hidróxido de Calcio (Ca(OH) <sub>2</sub> )	82,37	%	
Oxido de Magnesio (MgO)	0,78	%	
Oxido de Sodio (Na <sub>2</sub> O)	0,028	%	
Oxido de Potasio (K <sub>2</sub> O)	0,014	%	

CARACTERÍSTICAS GRANULOMÉTRICAS			
Retenido malla 230 (INEN 244)	6,5	%	Máximo
Densidad Aparente	0,5 - 0,6	gr/cm <sup>3</sup>	Rango.

CARACTERÍSTICAS DEL EMPAQUE	
Envase	Bolsa de papel Kraft. 2 capas 95 gr/m <sup>2</sup> .
Tipo	Multipliegos pegados y con válvula.
Capacidad	25 Kg. Aprox.

Fuente. Tomado de Calizas Huayco, 2015

### 6.2.7. Preparación de muestras para el análisis

Una vez que el pH fue llevado a los rangos necesarios para la experimentación, los frascos fueron llenos con 1000 ml de agua para posteriormente ser tapados y etiquetados de acuerdo al tratamiento y réplica correspondiente. Se tomó el tiempo en que se sumergió la muestra para cumplir con el registro de inmersión acordado.

Las unidades experimentales fueron llenadas con 1000 ml de agua salada, luego se introdujeron las muestras experimentales y los frascos plásticos fueron sellados, finalmente se registró el tiempo inicial de inmersión para cumplir con el período de tiempo establecido previamente.

Cuando las muestras de alimento balanceado cumplieron el tiempo de inmersión correspondiente, se retiraron del agua y cada muestra fue colocada en una placa de papel aluminio para continuar con el proceso de secado, todas las muestras fueron colocadas en una estufa, donde se mantuvieron por un período de 12 horas a 105°C, siguiendo el

protocolo estandarizado para dietas alimenticias para animales, de acuerdo al método de Kjeldahl.

#### **6.2.8. Método Kjeldahl**

Las muestras previamente libres de humedad fueron maceradas, y se usó 2g de polvo de alimento balanceado por muestra, el cual se depositó en un tubo de ensayo, adicionalmente se colocaron los reactivos necesarios para la etapa de digestión, después los residuos restantes producto de la digestión, fueron llevadas a la etapa de destilación que se desarrolló en el equipo de destilación, se colocaron los reactivos requeridos y finalmente se obtuvo un precipitado que contenía amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), dicha solución fue finalmente titulada bajo una solución estandarizada que nos permite determinar el punto final de valoración, con el cual se pudo determinar la concentración de nitrógeno presente y la posterior determinación de proteína gracias al factor estándar del método (6,25).

#### **6.2.9. Variables a medir**

##### **Contenido de proteínas**

A las muestras de alimento balanceado para camarón blanco, tomadas en cada uno de los tiempos y rangos de pH establecidos se realizó el método de Kjeldahl para obtener la concentración de nitrógeno total y luego determinar el Porcentaje de Proteína Lixiviada (PPL) por medio de ejercicios de extrapolación donde se toma como referencia el porcentaje del contenido de proteína inicial del alimento balanceado.

#### **6.2.10. Procesamiento estadístico**

Para determinar si se presenta o no efecto de interacción entre los niveles de cada factor de estudio; pH 7, pH 8, pH 9, y tiempo de inmersión: 30 min, 120 min y 360 min., se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) Factorial Intergrupos. En caso de presentarse efecto de interacción se realizó una modificación en la matriz de datos, en función de determinar la mejor combinación de tratamientos. Si no se presenta efecto de interacción entre los tratamientos de cada factor de estudio se determinaron los efectos principales de cada factor de estudio por separado. De forma previa se verificó el cumplimiento de los requisitos del modelo paramétrico utilizado (Independencia de observaciones, Normalidad de datos verificada con el test de Shapiro-Wilk y Homogeneidad de

Varianzas contrastada con el Test de Levene) para los grupos conformados (pH del agua y Tiempo de inmersión).

Para la representación de los resultados estadísticos obtenidos se usaron gráficos de barras simples, en los cuales se presentan las medias de la variable contenido de proteína en cada combinación de tratamiento y las medias del porcentaje de proteína lixiviada, así como las diferencias y similitudes entre ellos, además, cada barra fue identificada con una letra de acuerdo a los resultados de la prueba de rangos y comparaciones múltiples de Duncan.

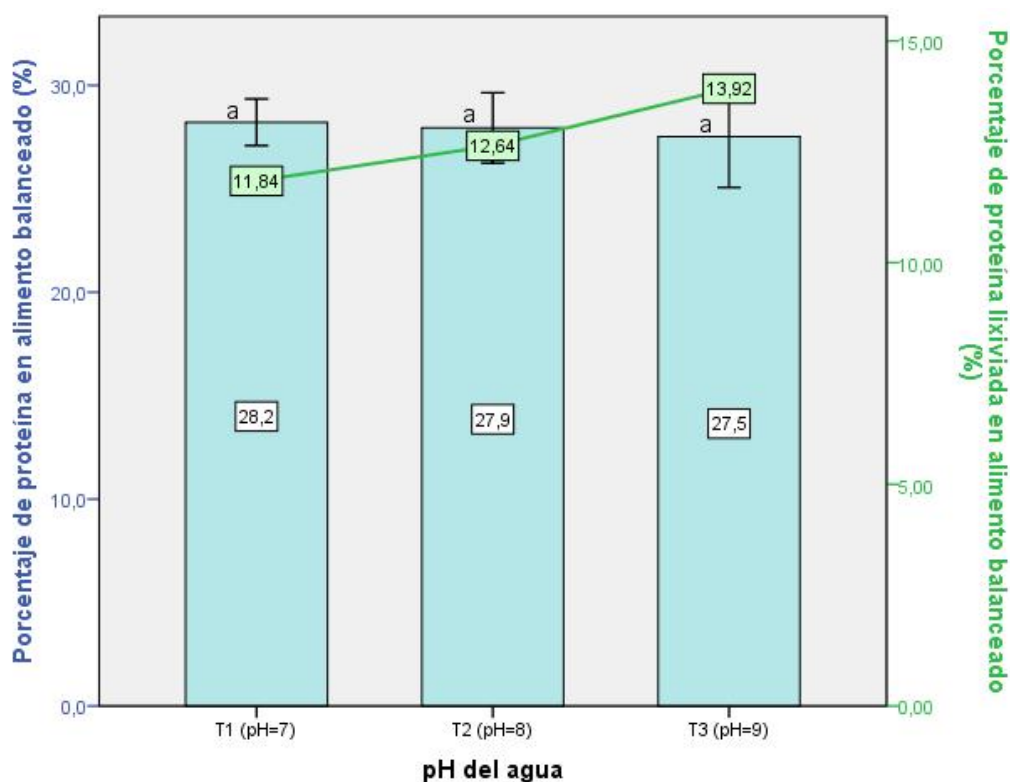
El análisis estadístico de los datos fue ejecutado con la utilización del software estadístico SPSS Statistics 22 compatible con Windows 11, el nivel de significancia utilizado en las pruebas estadísticas fue del 0,05.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Potencial de hidrógeno (pH)

En la Figura 5 se observa el efecto del pH del agua sobre la concentración y lixiviación de proteínas y en el alimento balanceado. De acuerdo a los niveles de pH planteados, se obtuvo la media de contenido de proteína y porcentaje de proteína lixiviada PPL de 28,2% y 11,84%, 27,9% y 12,64%, 27,5% y 13,92% correspondientes al nivel de 7, 8 y 9 de pH, respectivamente. Estos resultados muestran que al nivel de pH de 7 se obtuvo el menor PPL. Sin embargo, aunque el porcentaje de lixiviación de proteínas en el alimento balanceado presenta variaciones entre los 3 tratamientos, sus diferencias no son estadísticamente significativas.

**Figura 5.** Efecto del pH del agua sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco. Se muestra el promedio  $\pm$  DE.



Nota. Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor menor a 0,05 (prueba de Duncan).

En la Tabla 1 se muestra el análisis de varianza del pH del agua en la proteína del alimento balanceado. El ANOVA del factor intergrupos muestra que no existe una diferencia estadística significativa entre los niveles del factor de estudio (rango de pH), debido a que el p-valor es de 0,727, siendo mayor a alfa, por lo tanto, se concluye que los rangos de pH del agua no presentan un efecto en el contenido de proteínas en el alimento balanceado comercial para camarón blanco.

**Tabla 1.** Prueba de efecto intergrupos para la variable pH del agua en el contenido de proteínas en el alimento balanceado.

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>de gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	2,204	2	1,102	,324	,727
Dentro de grupos	81,737	24	3,406		
<b>Total</b>	<b>83,941</b>	<b>26</b>			

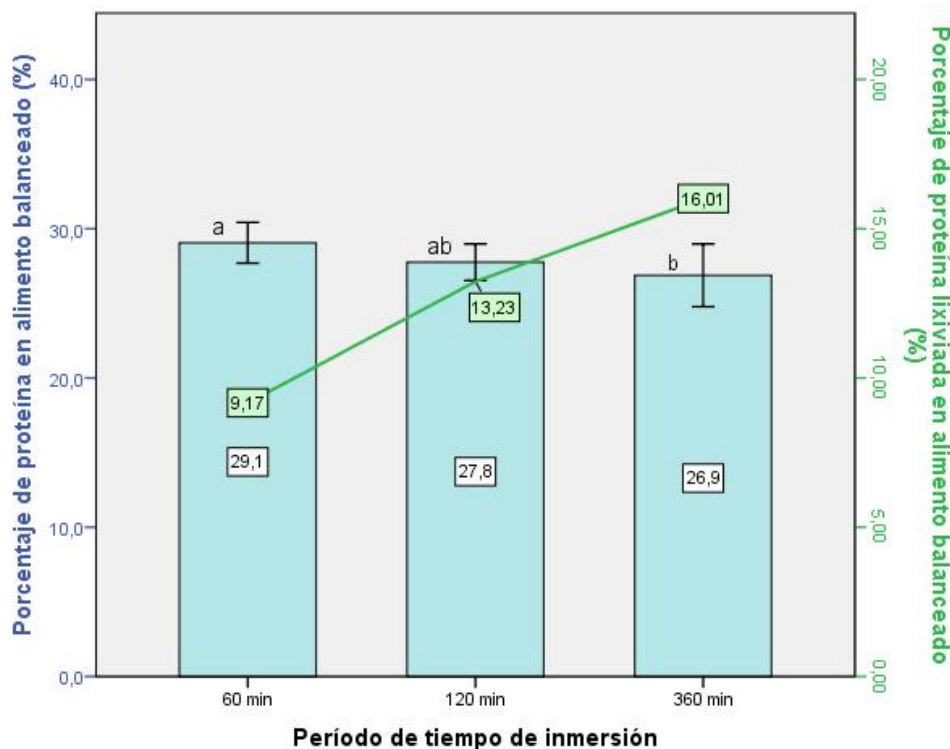
Los rangos de pH establecidos en este estudio (7, 8 y 9) son los que comúnmente se pueden encontrar en estanques acuícolas para la cría de *L. vannamei*, con la finalidad de evitar estrés en el animal. De la misma manera, Duan et al., (2019) y Yu et al., (2020) coinciden en que rangos de pH por debajo de 6,7 y por encima de 9,5 provocan estrés en el animal, afectando su estado fisiológico. En la presente investigación, las muestras de alimento balanceado sometidas a tratamientos con diferentes valores de pH mostraron que a un pH de 7, el porcentaje de lixiviación de proteínas es menor, dicho argumento es similar al encontrado por Jiage et al., (2019) quienes realizaron un trabajo con harina de soya, donde obtuvieron el mayor contenido de proteínas cuando mantenían un pH de 6,5. Así mismo, Labuckas et al., (2016) demostraron que la solubilidad de la proteína de ciertas harinas vegetales es mínima en valores de pH de 4 a 5 y que la solubilidad máxima se alcanzó a pH de 8. En el presente trabajo se obtuvo la mayor pérdida de proteína cuando el alimento está sumergido en aguas con un nivel de pH de 9, así mismo Matak et al., (2015) reportaron resultados similares en su estudio realizado con proteínas de origen animal provenientes de subproductos usados para el procesamiento de alimentos, donde determinaron que tienen una mayor solubilidad en valores altos de pH (10,5 - 13,0 pH) o valores muy bajos (1,5 - 3,0 pH). Sin embargo, las diferencias entre los tratamientos son

similares, por lo que se puede afirmar que los niveles de pH planteados no influyen directamente sobre la lixiviación de proteínas, ya que de acuerdo con Benítez et al., (2008) las proteasas utilizadas en la fabricación de alimentos balanceados trabajan en rangos de pH entre 7-9, y en base a ello Alegret et al., (2004) afirman que al no existir un cambio brusco de pH en el medio acuático la proteína no sufre una solubilidad considerable, lo cual tiene una estrecha relación al resultado encontrado en este trabajo, por ende, el pellet de alimento balanceado no presentó una grave pérdida del contenido de proteínas.

## 7.2. Tiempo de inmersión

En la Figura 6 se observa el efecto del tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteína del alimento balanceado. En los diferentes tiempos de inmersión propuestos, se observó una media de contenido de proteína y PPL de 29,1% y 9,17%, 27,8% y 13,23%, 26,9% y 16,01%, para 60, 120 y 360 minutos de inmersión, respectivamente. Estos resultados indican que al minuto 60 se reportó el mayor contenido de proteína, el cual es diferente estadísticamente al resto de los períodos del tiempo de inmersión estudiados.

**Figura 6.** Efecto del tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco. Se muestra el promedio  $\pm$  DE.





Nota. Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor menor a 0,05 (prueba de Duncan).

En la Tabla 2 se visualiza el análisis de varianza del tiempo de inmersión del pellet en el contenido de proteína del alimento balanceado. La prueba ANOVA del factor intergrupos indica que existe una diferencia estadística significativa entre los niveles del factor de estudio (tiempo de inmersión), puesto que el p-valor obtenido es de 0,028, menor a alfa, por consiguiente se concluye que el tiempo de inmersión presenta un efecto de interacción sobre la cantidad de proteínas en el alimento balanceado comercial para camarón blanco.

**Tabla 2.** Prueba de efecto intergrupos para la variable tiempo de inmersión en el contenido de proteínas en el alimento balanceado.

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	21,685	2	10,842	4,180	,028
Dentro de grupos	62,256	24	2,594		
<b>Total</b>	<b>83,941</b>	<b>26</b>			

De acuerdo con Jiménez & Guerra (2011) quienes determinaron que el camarón blanco se alimenta de su primera ración inmediatamente al recibir el alimento exógeno, y que luego de 30 minutos a 1 hora, estos volverán a comer, por lo que en este estudio se establecieron períodos similares con el fin de manejar condiciones en las que el organismo se alimenta en el estanque, dicho criterio es válido ya que Casillas-Hernández et al., (2006) mencionan que *Litopenaeus vannamei* tiene la capacidad de consumir alimento balanceado en un período extenso durante el día. Además, según Cruz-Suarez et al., (2006) la mayoría de las dietas comerciales tienen propiedades aglutinantes que brindan estabilidad a los gránulos de alimento por un lapso de 4 a 6 horas, lo que concuerda con Ullman et al., (2019), quienes en su estudio concluyeron que un lapso de 4 horas es adecuado aportar una nueva ración de alimento. Finalizada la fase experimental del presente trabajo se evidencia que el pellet tuvo el menor porcentaje de proteína lixiviada (9,17%) a los primeros 60 minutos, y que luego se presentó un notorio incremento en el porcentaje de proteína lixiviada (16,01%) cuando el pellet ha permanecido sumergido en

el agua por un lapso de 360 minutos, esto debido a que probablemente mientras más tiempo permanezca el alimento balanceado en inmersión en el agua, este está más expuesto a sufrir cambios en su estructura y por consiguiente sus componentes.

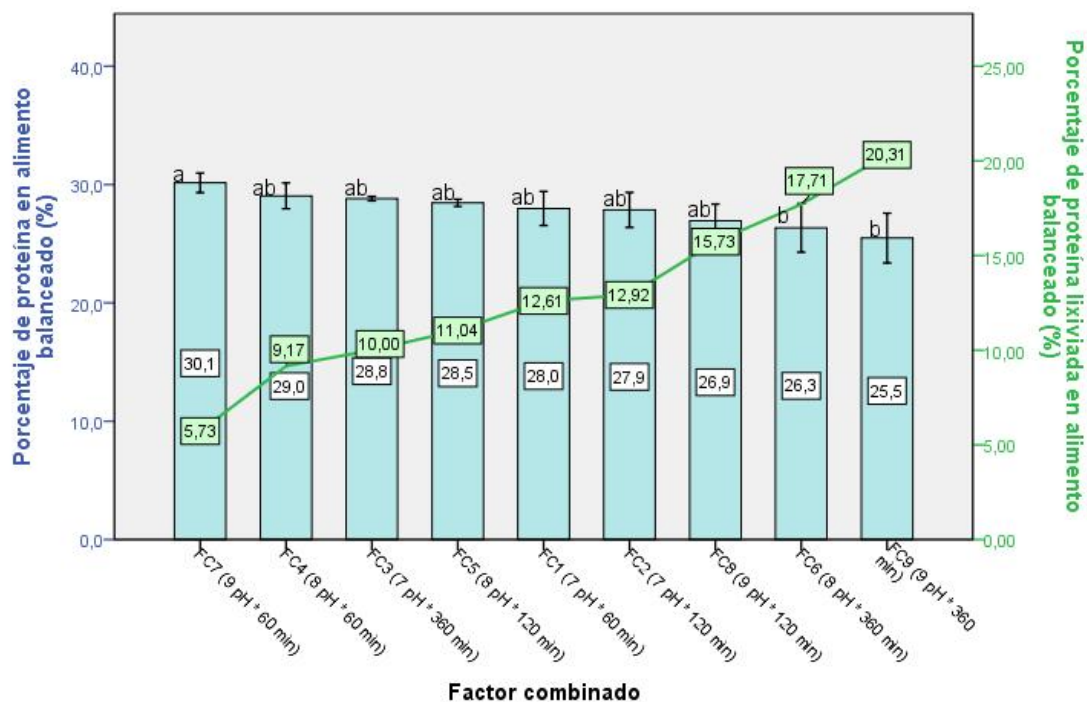
### **7.3. Interacción pH y tiempo de inmersión**

En la Figura 7 se observa el efecto del pH del agua y tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado donde se visualiza que la mejor combinación es el FC7 (9 pH \* 60 min), debido a que se logró obtener el menor PPL (5,73%) y un porcentaje contenido de proteínas de 30,1%. Así mismo, se observa que la combinación FC9 (9 pH \* 360 min) es la que tuvo el mayor PPL (20,31%) de todos los tratamientos y un porcentaje de proteína con 25,5%. Por lo tanto, son diferentes estadísticamente al resto de combinaciones estudiadas ( $p > 0,05$ ).

Por otro lado, podemos ver que en el FC4 (8 pH \* 60 min), FC3 (7 pH \* 360 min) y FC5 (8 pH \* 120 min) se obtuvo una media del contenido de proteína y PPL de 29,0% y 9,17%, 28,8% y 10,0%, 28,5% y 11,04%, respectivamente. Por lo tanto, muestran similitudes estadísticas entre ellos y son diferentes estadísticamente al resto de combinaciones analizadas en el presente trabajo ( $p > 0,05$ ).

Con respecto al FC 1 (7 pH \* 60 min), FC 2 (7 pH \* 120 min), FC 8 (9 pH \* 120 min) se obtuvo una media del contenido de proteína y PPL de 28,0% y 12,61%, 27,9% y 12,92%, 26,9% y 15,73%, respectivamente, los cuales muestran similitudes estadísticas entre ellos, por otro lado el FC 6 (8 pH \* 360 min) obtuvo una media del contenido de proteína de 26,3% y un PPL de 17,71%, que resulta ser estadísticamente diferente el resto de combinaciones, sin embargo, todas las combinaciones planteadas en este estudio presentan diferencias estadísticas entre ellas ( $p > 0,05$ ).

**Figura 7.** Efecto del pH del agua y tiempo de inmersión sobre la concentración y lixiviación de proteínas en el alimento balanceado para camarón blanco. Se muestra el promedio  $\pm$  DE.



Nota. Letras diferentes difieren estadísticamente para un p-valor menor a 0,05 (prueba de Duncan).

En la Tabla 3 se muestra el análisis de varianza del factor combinado del pH del agua y el tiempo de inmersión sobre el contenido de proteína del alimento balanceado. El ANOVA del factor intergrupos muestra que existe una diferencia estadística significativa entre los niveles del factor de estudio (Factor combinado), debido a que el p-valor obtenido de 0,016 es menor a alfa, por lo tanto, se concluye que el rango de pH y tiempo de inmersión presentan un efecto de interacción sobre la cantidad de proteínas en el alimento balanceado comercial para camarón blanco.

**Tabla 3.** Prueba de efecto intergrupos para la variable factor combinado en el contenido de proteínas en el alimento balanceado.

<b>Fuentes de variabilidad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>de gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	50,218	8	6,277	3,351	,016
Dentro de grupos	33,723	18	1,873		
<b>Total</b>	<b>83,941</b>	<b>26</b>			

Los resultados obtenidos en el presente estudio, demostraron que los niveles de pH (7, 8 y 9) no influyen en el proceso de lixiviación de proteínas en alimento balanceado. Con respecto al tiempo de inmersión, se demostró que a 60 minutos existe un mayor contenido de proteína en el pellet de alimento balanceado, por ende, se deduce que el pellet no sufrió un grave impacto en su estructura. Dicho argumento es avalado por el trabajo realizado por Cruz-Suárez et al., (2002), quienes exponen que cuando el alimento balanceado para camarón blanco se encuentra sumergido en el agua, debe mantener su estructura de manera estable por el lapso de 2 horas como mínimo, ya que según Boyd et al., (2005), los alimentos que no logran mantener una hidroestabilidad adecuada se desintegran fácilmente y se produce un desperdicio de alimento, además se genera un problema de contaminación en el agua, lo cual acarrea efectos negativos directos en la calidad de suelo y agua.

## **8. CONCLUSIÓN**

Considerando los resultados del presente estudio, se concluye que los valores de pH entre 7 y 9 planteados en el presente estudio, no tienen una influencia significativa sobre la lixiviación de proteínas del alimento balanceado, debido a que las proteínas de grado alimenticio utilizadas para la elaboración de piensos, trabajan en rangos de pH similares a los que encontramos en ambientes acuáticos donde se desarrolla el camarón blanco, además, no existen variaciones bruscas de pH con la capacidad de causar una desnaturalización en la estructura de las proteínas contenidas en el pellet.

Por otra parte, se demostró que el tiempo de inmersión del pellet en el agua, si influye en la pérdida de proteínas por efecto del proceso de lixiviación, ya que a 60 minutos de inmersión se obtuvo el mayor porcentaje de proteína lixiviada, debido a que si la inmersión del alimento balanceado se prolonga por un período extenso el pellet sufre cambios en su estructura, dicho fenómeno busca ser minimizado gracias a la hidroestabilidad del alimento, la cual influye en la calidad y el valor nutricional del pellet de alimento balanceado.

## **9. RECOMENDACIONES**

En futuras investigaciones se recomienda realizar un análisis de compuestos nitrogenados presentes en la columna de agua, cuyo origen sea la lixiviación de proteínas del pellet de alimento balanceado, con el objetivo de estimar el efecto que tendría la descomposición del alimento en la calidad del agua y suelo.

Así mismo, es recomendable que para el proceso de alimentación en granjas camaroneras se realice un cálculo correcto de la cantidad de alimento balanceado que se va a suministrar al estanque, puesto que se debe proporcionar la ración adecuada con la finalidad de que pueda ser consumida por los organismos en un tiempo prudente, de modo que el contenido nutricional del alimento no sea afectado por un tiempo de inmersión extenso y pueda ser aprovechado eficazmente por los camarones en cultivo.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Albines, K. (2019). Evaluación de la calidad postlarval de camarón *Macrobrachium rosenbergii* (de man 1989) producido en ecloserías comerciales mediante pruebas de estrés [Universidad Nacional Agraria La Molina].  
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/4260/albines-nizamatia-marielly.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Alegret, P. L., Riera, J. B., & Salcedo, R. C. (2004). *Química y Bioquímica de los alimentos II (eBook)*. Edicions Universitat Barcelona.
- AquaFeed . (2015). Nutrición y Rentabilidad del Alimento para Camarones: Comprenda la comparación. *AquaFeed Español*. <https://aquafeed.co/entrada/nutricion-y-rentabilidad-del-alimento-para-camarones--comprenda-la-comparacion-21083/>
- AQUAHOY. (2018). La importancia del comportamiento para mejorar la producción de camarón en acuicultura. Portal de Información En Acuicultura. <https://aquahoy.com/la-importancia-del-comportamiento-para-mejorar-la-produccion-de-camaron-en-acuicultura/>
- Argüello, W. (2003). Efecto del tipo y concentración de aglutinantes sobre la estabilidad del alimento preparado, tasa de ingestión y desarrollo gonadal de *Litopenaeus vannamei* [Universidad de Guayaquil].  
<http://www.cenaim.espol.edu.ec/sites/cenaim.espol.edu.ec/files/Arguello%20wilfrido.pdf>
- Arias, M. F. (2017). Variación temporal de la calidad de agua del manglar y sistemas de cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en el Distrito de Colorado, Abangares.  
[https://repositorio.utn.ac.cr/bitstream/handle/20.500.13077/153/2017\\_FV.I.%20UTN.%20A.7%20Informe%20final\\_Camaron.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.utn.ac.cr/bitstream/handle/20.500.13077/153/2017_FV.I.%20UTN.%20A.7%20Informe%20final_Camaron.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Arreaga, D. (2020). Propuesta de elaboración de un manual de procedimiento para el montaje y desmontaje de rodillos en una máquina elaboradora de pellets de balanceados [Universidad de Guayaquil]. <https://es.scribd.com/document/539685265/Tesis-David-Arreaga-Terminada-f>
- Ayala, E. (2014). Efecto de la inclusión de harina de langostilla (*Pleuroncodes planipes*) en el alimento sobre la expresión y actividad enzimática digestiva en el intestino del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). [Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.].  
[http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/430/ayala\\_e.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/430/ayala_e.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *SciELO*, 42 (2), 227–360.
- Boschi, E., & Scelzo, M. (2019). La Acuicultura en America Latina Volumen 1. Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación.  
<https://www.fao.org/3/ac866s/AC866S35.htm>
- Boyd, C. (2013). CONSIDERACIONES SOBRE LA CALIDAD DEL AGUA Y DEL SUELO EN CULTIVOS DE CAMARÓN. *Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa*, 1–30.
- Boyd, C., Kwei, C., Pantoja, C., Lightner, D., Brock, J., Johnson, K., & Treece, G. (2005). Buenas Prácticas de Manejo Para el Cultivo de Camarón. *Agencia Para El Desarrollo Internacional de Los Estados Unidos*.
- Cadena-Cadena, F., Cárdenas-López, J., Ezquerra-Brauer, J., Cinco-Moroyoqui, F., López-Zavala, A., Santacruz-Ortega, H., & Rivero-Espejel, I. (2019). Effect of Temperature and pH on the Secondary Structure and Denaturation Process of Jumbo Squid

- Hepatopancreas Cathepsin D. *National Library of Medicine*, 26(7), 532–541.  
<https://doi.org/10.2174/0929866526666190405124353>
- Cai, Y., Huang, H., Yao, W., Yang, H., Xue, M., Li, X., & Leng, X. (2022). Effects of fish meal replacement by three protein sources on physical pellet quality and growth performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Reports*, 25, 101210. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101210>
- Carranza, E. O., Velásquez, R. A., & Rivas, A. F. (2018). Análisis de la proteína hidrolizada extraída del tejido de la curvina y la tilapia en el alimento del camarón. *Revista Ciencia y Tecnología*, 22, 23–36. <https://doi.org/10.5377/rct.v0i22.6437>
- Carrillo, W. (2014). Digestibilidad de las proteínas alergénicas. *Química Viva*, 13 (2), 109–122.
- Casillas-Hernández, R., Nolasco-Soria, H., Lares-Villa, F., García-Galano, T., Carrillo-Farnes, O., & Vega-Villasante, F. (2006). Ritmo circadiano de la actividad enzimática digestiva del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y su efecto en el horario de alimentación. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 2 (2), 55–64.
- Catzín, C. (2009). Procesos de solubilización/precipitación y de hidrólisis enzimática para la obtención de concentrados de proteína, a partir de cefalotórax de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. [Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.]. [http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/266/catzin\\_c.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/266/catzin_c.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Cedeño, G. (2019). Hidroestabilidad del alimento peletizado para la alimentación de camarones [Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39307/1/2019-Cede%20c3%b1o%20Ru%20c3%adz%2c%20German.pdf>
- Cruz-Suárez, L., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Marín-Zaldivar, L., 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 Acuícola*, 2–20.
- Cruz-Suarez, L., Ruiz-Díaz, P., Cota-Cerecer, E., Nieto-Lopez, M., 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. *Universidad Autónoma de Nuevo León*.
- Dávila, D., Uquillas, A., & Zorrilla, L. (2013). Reestructuración de cultivo semi-intensivo a intensivo de la Camaronera Cabrera Dávila a fin de incrementar su rentabilidad en el sector de Puerto Grande, Machala Provincia de El Oro [Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/13507>
- De Los Santos, R. (2019). Análisis de los compuestos nitrogenados y fósforo, bajo diferentes condiciones de alimentos, probióticos y densidades de siembra en un cultivo superintensivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en geomembranas [Universidad Autónoma de Nayarit]. <http://aramara.uan.mx:8080/bitstream/123456789/2291/1/AN%20c3%81LISIS%20DE%20LOS%20COMPUESTOS%20NITROGENADOS%20Y%20F%20c3%93SFORO%2c%20BAJO%20DIFERENTES%20CONDICIONES%20DE%20ALIMENTOS%2c%20PROBIO%20c3%93TICOS%20Y%20DENSIDADES%20DE%20SIEMBRA%20EN%20UN%20CULTIVO%20SUPERINTENSIVO%20DE%20CAMAR%20c3%93N%20BLA.pdf>
- Delgado, E., & Reyes, D. (2018). Extruded Aquaculture Feed: A Review. In *Extrusion of Metals, Polymers, and Food Products*. BoD – Books on Demand. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=\\_dCPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA145&dq=extruded+balanced+feed&ots=DLq202p3Kk&sig=-SyH5NyGgFOUvpPE4YWO9aqeIRY#v=onepage&q=extruded%20balanced%20feed&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=_dCPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA145&dq=extruded+balanced+feed&ots=DLq202p3Kk&sig=-SyH5NyGgFOUvpPE4YWO9aqeIRY#v=onepage&q=extruded%20balanced%20feed&f=false)



- 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>
- Dergal, S. B. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson Publications Company.
- Díaz, M., Rojas, M. A., Hernández, J. E., Linares, J. L., Durand, L. M., & Moscoso, J. E. (2021). Digestibilidad, energía digestible y metabolizable del sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L) peletizado y extruido en cuyes (*Cavia porcellus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *32*(5), e19654. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i5.19654>
- Duan, Y., Wang, Y., Liu, Q., Zhang, J., & Xiong, D. (2019). Changes in the intestine barrier function of *Litopenaeus vannamei* in response to pH stress. *Fish & Shellfish Immunology*, *88*, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.047>
- Eras-Agila, R. de J., & Meleán-Romero, R. (2021). Ecosistemas de producción camareros: Estudios y proyecciones para la gestión de costos. *INNOVA Research Journal*, *6*(3.1), 41–59. <https://doi.org/10.33890/innova.v6.n3.1.2021.1833>
- Faillace, J., Vergara, R., & Suarez, A. (2016). Evaluación de una fórmula alimenticia para camarón de cultivo (*L. vannamei*) con inclusión de proteína vegetal a base de harina de soya. *Revista AquaTIC*, *44*, 12–29.
- Farfante, P., Kensley, I., & Kensley, B. (1997). ITIS. Report: *Litopenaeus Vannamei*. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=551682#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=551682#null)
- Fox, J., Treece, G., & Sanchez, D. (2014). Nutrición y manejo del alimento. *Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa*.
- García, J., Hernández, J., & Meza, A. (2020). Determinación de sobrevivencia de Post-larvas *Litopenaeus vannamei* mediante la comparativa de los métodos de aclimatación: Por flujo continuo mínimo con intervalos de tiempo y flujo continuo mínimo, Las peñitas, León-Nicaragua, agosto 2019. [Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/7776/1/244628.pdf>
- González, D., Córdoba, J., Indorf, F., & Buitrago, E. (2007). Estudios preliminares en la formulación de dietas para camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*) utilizando ensilado de pescado. *Revista Científica*, *17*(2), 166–172.
- Guadix, A., Guadix, E., Páez, M., González, P., & Camacho, F. (2000). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, *41* (1), 79–89.
- 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>
- Honorato, C. A., de Almeida, L. C., Camilo, R. Y., Moraes, G., Nunes, C. D. S., & Carneiro, D. J. (2015). Dietary carbohydrate and food processing affect the digestive physiology of *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, *22*(4), 857–864. <https://doi.org/10.1111/anu.12308>
- Hoyos, J. L., Villada, H. S., Fernández, A., & Ortega-Toro, R. (2017). Parámetros de Calidad y Metodologías para Determinar las Propiedades Físicas de Alimentos Extruidos para Peces. *Información Tecnológica*, *28*(5), 101–114. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642017000500012>
- Hoyos-Concha, J., Villada-Castillo, H., Fernández-Quintero, A., & Ortega, R. (2022). Effect of the Addition of High-Protein Hydrolyzed Flour from *Oncorhynchus mykiss* Byproducts on the Properties of an Extruded Feed. *ACS Omega*, *7*(3), 2554–2564. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02650>

- Jiage, M., Xiuqing, Z., Lin, S., Chunlei, N., Juncai, H., & Jianjun, C. (2019). Mejora de la proteína soluble, la producción de polipéptidos y las propiedades funcionales de la harina de soya [soja] desnaturalizada por calor, mediante la fermentación de *Monascus purpureus* 04093. *CyTA: Journal of Food*, 17(1), 1014–1022. <https://doi.org/https://dialnet.unirioja.es/servlet/dcart?info=link&codigo=7169454&orden=0>
- Jiménez, R., & Guerra, M. (2011). Optimización del procedimiento del cálculo del alimento en estanques de engorde para la eficiencia del cultivo del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Cuba. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 12 (4).
- Kamalam, B. S., Medale, F., & Panserat, S. (2017). Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. *Aquaculture*, 467, 3–27. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.007>
- Kawamura, G., Bagarinao, T., Yong, A. S. K., Chen, C. Y., Noor, S. N. M., & Lim, L. S. (2015). Low pH affects survival, growth, size distribution, and carapace quality of the postlarvae and early juveniles of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Ocean Science Journal*, 50(2), 371–379. <https://doi.org/10.1007/s12601-015-0034-0>
- Labuckas, D. O., Lamarque, A. L., & Maestri, D. (2016). Partially defatted peanut flour: a functional ingredient to improve nutritional value of bakery products. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 7–7. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182016000400007>
- Lara-Espinoza, C., Espinosa-Plascencia, A., Rivera-Domínguez, M., Astorga-Cienfuegos, K., Acedo-Félix, E., & Bermúdez-Almada, M. (2015). Desarrollo de camarón *Litopenaeus vannamei* en un sistema de cultivo intensivo con biofloc y nulo recambio de agua. *Revista AquaTIC*, 43, 1–13.
- Ma, S., Wang, H., Yang, J., Li, J., Xue, M., Cheng, H., Zou, F., & Blecker, C. (2022). Effects of *Clostridium autoethanogenum* protein inclusion levels and processing parameters on the physical properties of low-starch extruded floating feed. *Aquaculture Reports*, 23, 101030. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101030>
- Martínez, M. E., Asiaín, A., Reta, J. L., Morales, V., Fernández, B., & Garduño-Lugo, M. (2018). Uso de *Saccharomyces cerevisiae* para el control de calidad y cantidad de agua en el cultivo de camarón blanco. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(7), 1339–1349. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.1669>
- Matak, K. E., Tahergorabi, R., & Jaczynski, J. (2015). A review: Protein isolates recovered by isoelectric solubilization/precipitation processing from muscle food by-products as a component of nutraceutical foods. *Food Research International*, 77, 697–703. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.048>
- Mirabent, M. (2019). Evaluación de piensos comerciales para el alevinaje de tilapia roja (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) en ambiente marino. [Universidad de La Habana]. <https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/15322/Maestr%c3%ada%20Marian%2017.4.2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Montoya-Martinez, C., Nolasco-Soria, H., Carrillo-Farnés, O., Civera-Cerecedo, R., Álvarez, C., & Vega-Villasante, F. (2016). Chemical score of different protein sources to four *Macrobrachium* species. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4), 835–844. <https://doi.org/10.3856/vol44-issue4-fulltext-19>
- Morales, Y. (2012). Evaluación del crecimiento y del contenido de hemocitos circulantes totales en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, expuestos a dietas experimentales con diferentes niveles de proteína y probióticos. [Universidad Autónoma de Baja California Sur]. <http://192.100.161.23/bitstream/23080/183/1/te2832.pdf>

- Morán, V. (2017). Efecto de probióticos en el crecimiento de larvas del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en cautiverio [Universidad de Guayaquil]. [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29736/2/Tesis\\_Viveky.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/29736/2/Tesis_Viveky.pdf)
- Ordoñez, A. (2020). Beneficios de las harinas de origen animal y vegetal en la formulación de dietas para la alimentación de *Litopenaeus vannamei* [Universidad Técnica de Machala]. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16111/1/ECUACA-2020-IAC-DE00010.pdf>
- Oterhals, Å., & Samuelsen, T. A. (2015). Plasticization effect of solubles in fishmeal. *Food Research International*, 69, 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.028>
- Ponce-Palafox, J., Martínez-Palacios, C. A., & Ross, L. G. (1997). The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 157(1–2), 107–115. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(97\)00148-8](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(97)00148-8)
- Richter, B. L., Castro Silva, T. S., Michelato, M., Marinho, M. T., Gonçalves, G. S., & Furuya, W. M. (2020). 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>
- Robles Porchas, G. R., Gollas Galván, T., Martínez Porchas, M., Martínez Cordova, L. R., Miranda Baeza, A., & Vargas Albores, F. (2020). The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2228–2249. <https://doi.org/10.1111/raq.12431>
- Samuelsen, T. A., & Oterhals, Å. (2015). Water-soluble protein level in fishmeal affects extrusion behaviour, phase transitions and physical quality of feed. *Aquaculture Nutrition*, 22(1), 120–133. <https://doi.org/10.1111/anu.12235>
- Schmidt, M., & Mellon, D., Jr. (2010). Neuronal processing of chemical information in crustaceans. In *Chemical Communication in Crustaceans* (pp. 123–147). Springer New York. [http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-77101-4\\_7](http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-77101-4_7)
- Soares, M., Rezende, P. C., Corrêa, N. M., Rocha, J. S., Martins, M. A., Andrade, T. C., Fracalossi, D. M., & do Nascimento Vieira, F. (2020). Protein hydrolysates from poultry by-product and swine liver as an alternative dietary protein source for the Pacific white shrimp. *Aquaculture Reports*, 17, 100344. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100344>
- Sørensen, M. (2012). A review of the effects of ingredient composition and processing conditions on the physical qualities of extruded high-energy fish feed as measured by prevailing methods. *Aquaculture Nutrition*, 18(3), 233–248. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00924.x>
- Sotelo-Cornejo, K. G., Espinosa-Plascencia, A., Gámez-Bayardo, S., Pérez-Álvarez, A., Jiménez-Edeza, M., García-Galaz, A., & Bermúdez-Almada, M. D. C. (2021). Efecto de la fotólisis y pH en la degradación de la oxitetraciclina en sedimento y agua marina. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 24. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.369>
- Terrazas, M., Civera, R., Ibarra, L., & Goytortúa, E. (2010). Coeficientes de utilización digestiva aparente de materia seca, proteína y aminoácidos esenciales de ingredientes terrestres para el camarón del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). *Revista de Biología Tropical*, 58(4). <https://doi.org/10.15517/rbt.v58i4.5431>
- Turchini, G. M., Trushenski, J. T., & Glencross, B. D. (2018). 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>

- Ullman, C., Rhodes, M. A., & Davis, D. A. (2019). The effects of feed leaching on the growth of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in a green water tank system. *Aquaculture Research*, 50(10), 3074–3077. <https://doi.org/10.1111/are.14237>
- Ulloa-Zaila, A., Castillo-Jiménez, D. T., Rivadeneira-Casanueva, D., de la Cruz-Rivadeneira, O., & Mederos-Yumar, E. L. (2021). Diagnóstico y Cuantificación de Pérdidas en la Gestión Logística de Almacenamiento en la Comercialización de Productos Pesqueros. *Revista Técnica De La Facultad De Ingeniería Universidad Del Zulia*, 44(3), 188–198. <https://doi.org/10.22209/rt.v44n3a05>
- Villarreal-Cavazos, D., Hinrichsen, J., Gamboa-Delgado, J., Nieto-López, M., Tapia-Salazar, M., Maldonado-Muñiz, M., Ricquie-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. (2017). Evaluación de la Atractabilidad, Palatabilidad y Consumo de Ingredientes en Alimentos Balanceados para el Camarón Blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. *Avances En Nutrición Acuícola*.
- Wang, X., Huang, Z., Wang, C., Qi, C., Gu, Z., Li, E., Qin, J. G., & Chen, L. (2020). A Comparative Study on Growth and Metabolism of *Eriocheir sinensis* Juveniles Under Chronically Low and High pH Stress. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00885>
- Yu, Q., Xie, J., Huang, M., Chen, C., Qian, D., Qin, J. G., Chen, L., Jia, Y., & Li, E. (2020). Growth and health responses to a long-term pH stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 16, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100280>
- 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*, 2019, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/6239870>
- Zhang, Y., Øverland, M., Sørensen, M., Penn, M., Mydland, L. T., Shearer, K. D., & Storebakken, T. (2012). Optimal inclusion of lupin and pea protein concentrates in extruded diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 344–349, 100–113. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.03.012>

## 11. ANEXOS



**Anexo 1.** Medición de pH con peachimetro digital.



**Anexo 4.** Fase de digestión.



**Anexo 2.** Unidades experimentales



**Anexo 5.** Fase de destilación.



**Anexo 3.** Colocación de las muestras en la estufa



**Anexo 6.** Fase de titulación.

## **Método Kjeldahl para determinar el contenido de proteínas en alimentos para animales**

### **Muestra**

Se toman 2g aproximadamente de producto molido, tamizado a 2 mm y secado a 105 °C hasta peso constante, pesado con precisión y colocado cuantitativamente en un tubo de ensayo. En el caso de productos ricos en proteínas (carne o harina de pescado) se puede reducir la muestra a 1g.

### **Reactivos para digestión**

Para cada muestra se debe añadir en el tubo de ensayo:

1 tableta catalizadora

12 ml de ácido sulfúrico concentrado (96-98%) 96%

5 ml de agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 35% (130 vol.)

### **Digestión**

En el proceso de digestión se calienta la materia puesta en los tubos de ensayo durante 60 min a 420 °C.

### **Enfriamiento**

Se deben dejar enfriar los tubos de ensayo a 50-60 °C para continuar con el siguiente proceso.

### **Destilación - titulación**

Se coloca en posición la probeta con la muestra digerida en la unidad UDK149.

Factor: 6,25

### **Adición de reactivos**

Agua destilada= 50 ml

Ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)= 30 ml

Hidróxido de Sodio (NaOH)= 50 ml

Valorante: Ácido clorhídrico (HCl) 0.2N

Tiempo de destilación= 3 min