



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIETAS CON
PROTEÍNA Y LÍPIDOS DE ORIGEN VEGETAL EN
RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE CRÍAS DE TRUCHA
ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) DEL CENTRO DE
PRODUCCIÓN ACUÍCOLA “EL ZARCO”.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G A
P R E S E N T A:
KARLA LORENA PEÑAVERA CADENA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente estudio se realizó con el apoyo del programa PAPIIT IN213115 de la DGAPA, UNAM.

A Dios, a mis padres, a mis hermanos, y
a Oscar, LOS AMO.

DEDICATORIAS

A la UNAM. Particularmente a la FES Iztacala, por brindarme mi formación académica

A los profesores Dr. Luis Héctor Hernández Hernández, M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, M. en C. Teresa Ramírez Pérez, Biol. Omar Ángeles López y al Biol. Daniel Sánchez Ávila, por su paciencia, tiempo y apoyo en la realización de este trabajo.

A mis padres, a quienes les debo todo lo que soy, por todo su apoyo y por ser el mejor ejemplo a seguir.

A mis hermanos, Pame G. y Edgar, por escucharme y orientarme.

A Oscar, por ser mi compañero durante la carrera, por ser mi mejor amigo y estar a mi lado en los momentos más difíciles y superar toda clase de pruebas, que nos hicieron más unidos y más fuertes. TE AMO.

A mis amigos. A Pame R., Paty y Consuelo con quienes aprendí las locuras de trabajar en equipo, las discusiones por las complicaciones y, aun así, seguir con nuestra amistad. A Jessy (tomé en cuenta cada una de tus palabras, aunque no lo creas), a Leo, a Juan, a Lu y a Dan, por hacer más liviano el trabajo, por su ayuda y enseñanzas en el laboratorio y fuera de él. A Fer e Iván, por su amistad. A Cris, por compartir tus crisis conmigo, sufrir juntas y por tu amistad. A Miriam por enseñarme como ser una mejor amiga, y Joss, por reencontrarnos. A la Lic. Fabiola Chávez, al Dr. Rubén Gaona, al Lic. Tonatiuh Sabino, MVZ Eduardo Mendoza y al Lic. Salvador Dorantes, por las oportunidades brindadas, por su enorme apoyo en el inicio de mi experiencia profesional y por su amistad.

Contenido

RESUMEN	8
Introducción	9
Antecedentes	10
Objetivos	11
Objetivo general.....	11
Objetivos particulares	11
Materiales y Métodos	12
Formulación de dietas experimentales	12
Prueba de alimentación	13
Tabla 2. Análisis químico proximal de la dieta.....	14
<i>Parámetros de crecimiento</i>	<i>14</i>
Tasa de Crecimiento Específico (%/día) (TCE) (Refstie, Stile y Trond, 1997).....	14
Ganancia en Peso (g) (GP) (Adeliz, <i>et.al.</i> , 1998).....	14
Tasa de Ingesta (g/pez/día) (TI) (Mundhaim, <i>et.al.</i> , 2004)	14
Ti= Alimento ingerido en materia seca	14
Tasa de Conversión del Alimento (TCA) (Adeliz, <i>et.al.</i> , 1998)	14
Tasa de Conversión de la Proteína (TCE) (Adeliz, <i>et.al.</i> , 1998).....	14
Supervivencia	15
SV= (número final de organismos/ número inicial de organismos) * 100.....	15
Coefficiente de Digestibilidad Aparente	15
Análisis químico proximal	16
Análisis estadístico	16
Resultados	17
Análisis químico proximal	18
Coefficiente de Digestibilidad Aparente	19
Consumo de oxígeno, excreción de fósforo y nitrógeno	20
Discusión	22
Conclusiones	25
Referencias.....	26
Procedimiento	31
Cenizas (%)= (peso de las cenizas/peso de la muestra) * 100	31

<i>CONTENIDO DE HUMEDAD</i>	31
Procedimiento	31
Humedad (%) = (1-(Peso inicial/ peso final)) *100	32
<i>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR KJELDAHL</i>	32
%Nitrógeno= (ml muestra- ml blanco) * 140.07/mg muestra.....	34
<i>LÍPIDOS TOTALES (BLIGH AND DRYER, 1959)</i>	34
Reactivos	34
Material y equipo	34
<i>DETERMINACIÓN DE FÓSFORO Y NITRÓGENO EXCRETADOS</i>	35
Método de Nessler para determinación de nitrógeno	35

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIETAS CON PROTEÍNA Y LÍPIDOS DE ORIGEN VEGETAL EN RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE CRÍAS DE TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) DEL CENTRO DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA “EL ZARCO”.

RESUMEN

Con el crecimiento acelerado de la acuicultura, ha habido un aumento del uso de harina y aceite de pescado, que es la materia prima y principal fuente de proteína en esta actividad, provocando escasez; lo que ha llevado a la búsqueda de fuentes de proteína alternativas de origen vegetal como la soya. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dietas con una inclusión del 75% y 90% (D75 y D90, respectivamente) de aislado de proteína de soya contra una dieta comercial (DC) con 100% de harina de pescado, en el crecimiento y desarrollo de crías de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Se realizó una prueba de alimentación con organismos con un peso inicial promedio de 0.25g por individuo durante 50 días. Los resultados obtenidos llevaron a las siguientes conclusiones; la proporción ideal de sustitución de harina de pescado por APS es de 75% para que no repercuta en el crecimiento de las crías de trucha arcoíris; la digestibilidad de la proteína resultó similar entre los tratamientos, lo que indica que la proteína es aprovechada de la misma manera que con la dieta comercial; el consumo de oxígeno disminuyó con la D75, sin embargo, es factible que las fluctuaciones entre tratamientos se deban al estrés provocado por la manipulación de los organismos; la excreción de nitrógeno aumentó en D90, pero se atribuye al estrés de ser sometidos a 24 hrs de ayuno; la excreción de fósforo fue menor con D90, lo que señala que la baja disponibilidad de fósforo en las dietas elaboradas con APS disminuye su excreción.

Introducción

La acuicultura ha sido la actividad que más ha contribuido en el crecimiento del suministro de productos pesqueros para consumo humano, pues de proporcionar el 7% en 1974, aumentó al 26% en 1994 y al 34% en 2004. (FAO, 2016). Con este incremento en la producción, ha causado una demanda cada vez mayor de dietas balanceadas y cuyas formulaciones tienen como base a la harina y el aceite de pescado (Junming, 2014). Estos ingredientes se obtienen a partir de peces marinos de hábitos pelágicos y cuya forma de captura no es selectiva (Valenzuela, 2012). Para su producción se utiliza aproximadamente el 35% de la captura total global de pescado y se necesitan aproximadamente 4 kg de pez húmedo para producir 1 kg de harina de pescado (Ustaoglu, 2006). Si esta tendencia continúa, la acuicultura consumirá la producción de harina y aceite de pescado a nivel mundial y a corto plazo podría verse limitada por la falta de recursos proteicos (FAO, 2016).

Otro problema de la utilización de ambos ingredientes en las dietas, es que incrementa la aportación de fósforo y nitrógeno a los sistemas acuáticos y afecta la calidad del agua (Bureau, 1999). El exceso de ambos nutrientes puede iniciar procesos de eutrofización en los sistemas acuáticos, además de provocar anoxia (López, 1997) y a largo plazo, la pérdida de diversidad biológica.

Frente a estos problemas, se ha propuesto la sustitución de la harina de pescado y el aceite de pescado en las dietas, por ingredientes de origen vegetal (Alvarado, 1995), cuyo uso representa un desafío, pues generalmente las harinas vegetales como fuente principal de proteína causan la reducción del crecimiento de los organismos, debido a la deficiencia de algunos aminoácidos indispensables (Martínez, 1996). Así mismo, los ingredientes de origen vegetal contienen sustancias que interfieren con la digestión y asimilación de componentes del alimento, afectando la salud y crecimiento de los organismos. Los antinutrientes se dividen en 4 grupos, de acuerdo a la interferencia nutricional que tengan, a) aquellos que afectan la utilización de la proteína y la digestión, como inhibidores de proteasa, taninos y lecitinas, b) los que afectan la utilización de minerales el cual incluye fitatos, pigmentos de gossipol, oxalatos, glucosinolatos; c) antivitaminas, d) diversas sustancias como micotoxinas, mimosina, cianógenos, nitratos, alcaloides, agentes

fotosensibilizantes, fitoestrógenos y saponinas. También pueden clasificarse de acuerdo a su resistencia al procesamiento térmico, los tratamientos más comunes empleados para destruirlos (Francis, 2001). Existe un proceso para aislar la proteína de soya y eliminar gran parte de los anti nutrientes, utilizando técnicas que incluye tratamiento con temperatura para remover o desactivar factores anti nutricionales, oligosacáridos y fibra (Aguillón, 2012).

La producción acuícola en México está sustentada en un 15.95% proviene de la acuicultura (CONAPESCA, 2014). Actividad en la que la trucha arcoíris, es una especie importante para su crecimiento en México, pues de acuerdo a su valor económico se posiciona en el séptimo lugar y de las 7963 toneladas de trucha de la producción pesquera nacional, participa con el 48.1% (García, 2013). La tasa media de crecimiento anual de la producción en los últimos 10 años fue de 3.98%. Algunos estados productores de trucha son: Sonora, Chihuahua, Jalisco, Tlaxcala, Michoacán, Guerrero, Tamaulipas, Estado de México y Oaxaca. Particularmente en el Estado de México la producción anual promedio ha sido de 1 880 t durante los últimos 12 años, convirtiéndolo en el principal productor nacional de trucha arcoíris (SAGARPA, 2011; García, 2013).

Antecedentes

Existen pocos reportes en los que utilizan aislado de proteína de soya. La mayoría de los reportes en los que emplean ingredientes vegetales como fuente de proteína de origen vegetal, utilizan harina o concentrado de proteína de soya u otras harinas como maíz, chícharo, trigo, algodón, concentrado de proteína de arroz, entre otros. De estos, se mencionan por ejemplo:

Greene et al. (1990) que detectaron diferencias en la tasa de conversión del alimento o en la tasa de crecimiento, utilizando lípidos de origen vegetal y animal en el crecimiento, nutrición y perfiles lipídicos de tejido en trucha arcoíris.

Sener y Yildiz (2004), evaluaron el efecto de lípidos de origen vegetal y animal en el crecimiento y composición corporal de juveniles de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y reportaron que el crecimiento o no se vio afectado, pero el contenido de lípidos en el hígado

de los grupos con dietas que incluían aceite vegetal fue mayor que del grupo de dietas con aceite de pescado.

Ustaoglu et al. (2006) evaluaron dietas parcialmente sustituidas con aislado de proteína de soya para juveniles de esturión esterlete (*Acipenser ruthenus*), concluyendo que la digestibilidad de la proteína fue significativamente mayor en la dieta con la mitad de sustitución con aislado de proteína de soya, que en la dieta con un tercio de sustitución.

Aguillón (2012) reportó la disminución de la concentración de fósforo en agua y heces, además de niveles similares en crecimiento y consumo de oxígeno en tilapias (*Oreochromis* sp.) alimentadas con dietas con sustituciones de harina de pescado por aislado de proteína de soya y polvo de *Spirulina*.

Xu et al. (2012) sustituyeron harina de pescado por aislado de proteína de soya en dietas para esturiones juveniles (*Acipenser schrenckii*); reportaron tasa de ganancia en peso, tasa de conversión del alimento y tasa de supervivencia bajas en sustituciones de 75% y más en comparación con los organismos alimentados con dieta control.

Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto de dietas formuladas con aislado de proteína de soya y aceite de soya, sobre el crecimiento y desarrollo de crías de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Objetivos particulares

- Determinar el crecimiento, a través de diferentes parámetros, de las crías de trucha arcoíris alimentadas con dietas con una base de aislado de proteína de soya y aceite de soya.
- Determinar el coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína en los distintos tratamientos en crías de trucha arcoíris.
- Determinar los niveles de oxígeno consumido por las crías de trucha arcoíris post prueba de alimentación.

- Determinar la excreción de nitrógeno amoniacal y fósforo de las crías de trucha arcoiris generado por orina y/o respiración.

Materiales y Métodos

Obtención de organismos

Se obtuvieron crías de trucha arco iris de aproximadamente 20 días post eclosión del Centro de Producción Acuícola “El Zarco”, éstas se trasladaron al Laboratorio de Producción Acuícola de la FES Iztacala. Se colocaron en un tanque de 500 L con aireación, filtración continua y fueron alimentados con una dieta comercial (Api-trucha1, 50% proteína cruda, Malta- Cleyton de México) por un periodo de 15 días para su aclimatación.

Formulación de dietas experimentales

Se formularon 2 dietas experimentales con aislado de proteína de soya (Agrident de México S.A. de C.V., Querétaro, México) como fuente principal de proteína, considerando 75 (Tratamiento D75) y 90% (Tratamiento D90) de la porción total de la proteína. Para el resto se utilizó harina de pescado (Vimifos S.A. de C.V., Sonora, México) (Tabla 1). Así mismo, se utilizó aceite de soya (Drotasa, S.A. de C.V., México, México), aceite de pescado (Drotasa, S.A. de C.V., México, México) y lecitina de soya (Abastecedora de Productos Naturales, S.A. de C.V. Mérida, México). Como fuente de carbohidratos se empleó dextrina (Sigma- Aldrich Co., Missouri E.U.); como aglutinante, se usó gluten de trigo, Sigma- Aldrich Co., Missouri E.U.). Así mismo, se adicionó una mezcla de vitaminas y minerales (Micro Rovimix for carnivorous fish, DSM Nutritional Products of Mexico, Guadalajara, Mexico). Para llevar la dieta al 100%, se utilizó α -celulosa (Sigma- Aldrich Co., Missouri E.U.).

Los ingredientes en polvo se mezclaron en una batidora (Kitchen Aid) y posteriormente se agregaron los aceites y agua (40% peso/volumen). La masa resultante se hizo pasar por un molino para carne y se obtuvieron pellets de 5 mm de diámetro y finalmente se secaron en un horno a 60 °C durante 24 hrs. Las dietas se almacenaron a 4 °C hasta su uso. Como grupo control, se utilizó una dieta comercial para trucha (api- trucha, marca Malta-Cleyton).

Prueba de alimentación

Se utilizó un sistema de recirculación con tanques de polipropileno de 100 L. En cada uno de los tanques se colocaron aleatoriamente 25 organismos, con peso inicial promedio de 0.25g por individuo; cada una de las dietas se suministró a grupos por triplicado. Los peces se alimentaron con su respectiva dieta en una proporción del 9% de la biomasa total en cada tanque y la ración diaria se dividió en dos tomas, una en la mañana y otra por la tarde. Los organismos se pesaron cada 10 días para determinar el crecimiento y ajustar la ración en la dieta. La prueba tuvo una duración de 50 días, al finalizar, los organismos se mantuvieron sin alimento por un periodo de 24 hrs. Posteriormente, se pesaron y se midieron para determinar el crecimiento. Diez organismos tomados al azar fueron regresados a su respectivo tanque y alimentados por diez días más, con dietas adicionadas con 1% de cromo para posteriormente determinar la digestibilidad. El resto de los organismos fueron sacrificados con MS-222 (ácido metasulfónico, etil 3-aminobenzoato Sigma Aldrich Comp., St. Louis, MO, USA) y se diseccionaron para la obtención de muestras de hígado y músculo para los análisis químicos proximales (AOAC, 1995)

Tabla 1. Formulación de las dietas experimentales para crías de trucha arco iris.

Ingredientes (g/ kg)	Tratamientos	
	D75	D90
Harina de pescado	153	61
Aislado de proteína de soya	335	422
Aceite de pescado	25	25
Aceite de soya	75	75
Lecitina de soya	50	50
Dextrina	100	100
Mezcla de vitaminas y minerales	40	40
Mezcla de metionina y taurina (2.5:7.5)	10	10

Gluten	80	80
α- celulosa	132	137

Tabla 2. Análisis químico proximal de la dieta

	D75	D90
% Proteína	42.5±0	44.5±0
% Lípidos	12.7±0	11.3±1.5
% Ceniza	0.093±0	0.094±0
% Humedad	11.60±1.66	11.61±0.97

Parámetros de crecimiento

Los parámetros de crecimiento que se determinaron fueron:

Tasa de Crecimiento Específico (%/día) (TCE) (Refstie, et .al., 1997)

$$TCE = (\ln \text{Peso Final} - \ln \text{peso inicial}) / \text{Número de días de alimentación} * 100$$

Ganancia en Peso (g) (GP) (Adeliz, et.al., 1998)

$$GP = (\text{Peso final organismo} - \text{Peso inicial organismos}) / \text{Peso inicial organismo} * 100$$

También se evaluaron:

Tasa de Ingesta (g/pez/día) (TI) (Mundhaim, et.al., 2004)

$$Ti = \text{Alimento ingerido en materia seca}$$

Tasa de Conversión del Alimento (TCA) (Adeliz, et.al., 1998)

$$TCA = \text{ganancia en peso (g)} / \text{alimento consumido (g materia seca)}$$

Tasa de Conversión de la Proteína (TCP) (Adeliz, et.al., 1998)

$$TCP = \text{ganancia en peso (g)} / \text{proteína consumida (g materia seca)}$$

Supervivencia

$$SV = (\text{número final de organismos} / \text{número inicial de organismos}) * 100$$

Coefficiente de Digestibilidad Aparente

A las dietas se agregó 1% de óxido de cromo a expensas de la α -celulosa. Con estas dietas se alimentaron a los organismos por 10 días y 30 minutos después de ser alimentados, se colectaron las heces. Posteriormente se secaron, para determinar el contenido de proteína y de cromo; de las cuales 500 mg se digirieron con una mezcla de ácido perclórico y ácido nítrico a 250 °C. El contenido de cromo se cuantificó de acuerdo a la fórmula reportada por Furukawa y Tsukahara (1996):

$$[\text{Cr}_2\text{O}_3] = ((Y - 0.032) / 0.2089) / 4$$

Donde, Y= absorbancia at 350 nm

El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) para proteína y lípidos se calcularon de acuerdo a la fórmula de Austreng (1978):

$$\text{CDA (\%)} = 100 - ((\%MD / \%MF) \times (\%NF / \%ND) \times 100)$$

Dónde:

MD= marcador en la dieta; MF= marcador en heces; NF= nutrientes en heces and ND= nutrientes en dieta.

Determinación del consumo de oxígeno, excreción de fósforo y nitrógeno.

Al final del periodo de alimentación se utilizaron 10 organismos por tratamiento, los cuales se introdujeron en cámaras de flujo cerrado (un individuo por cámara) para determinar el consumo de oxígeno, así como la excreción de fósforo y nitrógeno por parte de los organismos midiendo las concentraciones de oxígeno disuelto, fósforo y nitrógeno en las cámaras antes de introducir a los organismos y 30 minutos después. Y obteniendo la diferencia en ese lapso de tiempo La determinación de oxígeno disuelto se realizó con oxímetro (modelo 85, YSI Incorporated, OH, USA), mientras que la concentración de fósforo y nitrógeno se determinó con las técnicas de Nessler y de Molibdovanadato,

respectivamente (Eaton et al., 1995), utilizando un espectrofotómetro marca Hach (DR 2800, Hach Co., Colorado, USA).

Análisis químico proximal

El contenido de cenizas y humedad en dietas y músculo de los organismos fue determinado de acuerdo a la metodología reportada por Olvera-Novoa (1993).

El contenido de proteína en dietas y músculo de los organismos, se determinó en el sistema de digestión y destilación FOSS CA, por el método AOAC (1995).

Para determinar el contenido de lípidos en dietas, músculo e hígado, se utilizó la técnica de extracción con metanol-cloroformo (Bligh y Dyer, 1959).

Análisis estadístico

Los resultados fueron comparados utilizando un ANDEVA (Análisis de Varianza de un Factor) y se utilizó la prueba de Tukey para la comparación entre los tratamientos, considerando un error de 5% ($p < 0.05$).

Resultados

Los valores en los parámetros de crecimiento (ganancia en peso, tasa de crecimiento específico, tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia de la proteína y supervivencia) mostrados en la Tabla 3., tienen diferencias significativas entre los organismos alimentados con dietas las dietas experimentales D75 y D90, pero no entre D75 y DC, ni D90 y DC. No obstante, el mayor crecimiento se obtuvo en los organismos alimentados con la dieta control.

Los valores obtenidos en la GP fueron mayores en los organismos alimentados con la dieta comercial, respecto a los tratamientos D75 y D90. La GP, TI y TEP tuvieron los valores más altos en los organismos alimentados con la dieta comercial.

Los organismos alimentados con la dieta con 90% de sustitución presentaron valores más altos respecto a las otras dietas en la TCE y la TCA.

La SV fue mayor al 80%, presentándose la supervivencia más alta en la dieta con 90% de sustitución, posteriormente la dieta control y finalmente la dieta con 75% de sustitución.

Tabla 3. Parámetros de crecimiento (ganancia en peso GP, Tasa de crecimiento específico TCE), así como Tasa de Ingesta TI, Tasa de conversión alimenticia TCA, Tasa de eficiencia de proteína TEP y supervivencia en crías de trucha arcoíris alimentadas con dietas con APS (D75 Y D90) y dieta comercial \pm el error estándar.

DIETA	GP (%)	TCE (%/día)	TI (g)	TCA	TEP	SV
CONTROL	947 \pm 42	3.6 \pm 0.04	0.96 \pm 0	1.74 \pm 0.11	1.69 \pm 0.11	92 \pm 4.61
D75	904 \pm 39	3.6 \pm 0.02	0.953 \pm 0	1.69 \pm 0.06	1.64 \pm 0.06	85.3 \pm 1.33
D90	741 \pm 23	3.8 \pm 0.12	0.956 \pm 0	1.95 \pm 0.09	1.60 \pm 0.07	94.6 \pm 3.52

Análisis químico proximal

Los valores en la composición proximal de músculo presentados en la Tabla 4. Indican que el porcentaje de ceniza en músculo no presentó diferencias significativas entre los tratamientos; se observa que el valor más alto fue el del tratamiento control, y el más bajo el del tratamiento D75.

Por otra parte, no hay diferencias significativas en el porcentaje de proteína en músculo. Los valores en el tratamiento con 75% de sustitución son menores respecto a las otras dietas. Por otro lado, los tratamientos control y 90% de sustitución presentaron valores similares.

Si bien no se mostraron diferencias significativas en el porcentaje de lípidos en músculo, existe una proporción mayor en los organismos alimentados con la dieta D90, fue menor con la dieta comercial.

El mayor porcentaje de lípidos en hígado se encontró en el tratamiento con 75% de sustitución, y el de menor porcentaje fue el de 90%, no mostraron diferencias significativas. (Figura 1).

Tabla 4. Composición proximal de músculo en crías de trucha arcoíris alimentadas con dietas con APS (D75 Y D90) y dieta comercial \pm error estándar.

DIETA	Ceniza (%)	Proteína (%)	Lípidos (%)
CONTROL	0.08 \pm 0	17.7 \pm 1.1	4 \pm 2
D75	0.09 \pm 0	16.9 \pm 0.3	4.6 \pm 0.6
D90	0.09 \pm 0	17.7 \pm 0.7	5.5 \pm 0.5

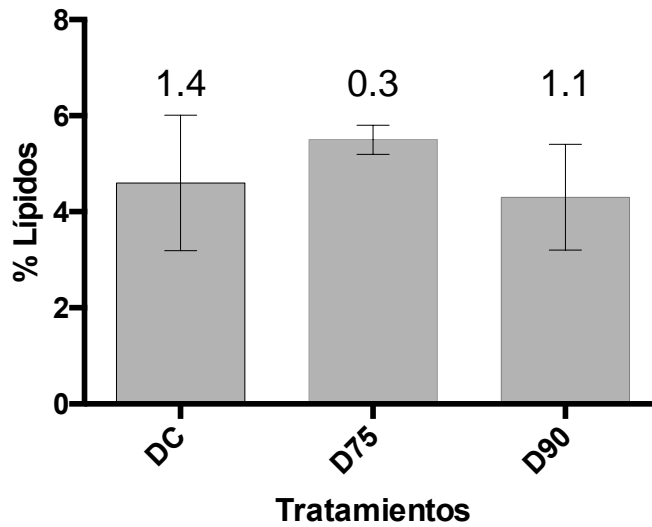


Figura 1. Porcentaje de lípidos en hígado de crías de trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas con 75% y 90% de sustitución de APS contra una dieta comercial \pm el error estándar de la media.

Coefficiente de Digestibilidad Aparente

Los valores del CDA (Figura 2) se encontraron por encima del 90%. Siendo mayor en el tratamiento con 75% de sustitución y menor en el de 90%; se encontraron diferencias significativas.

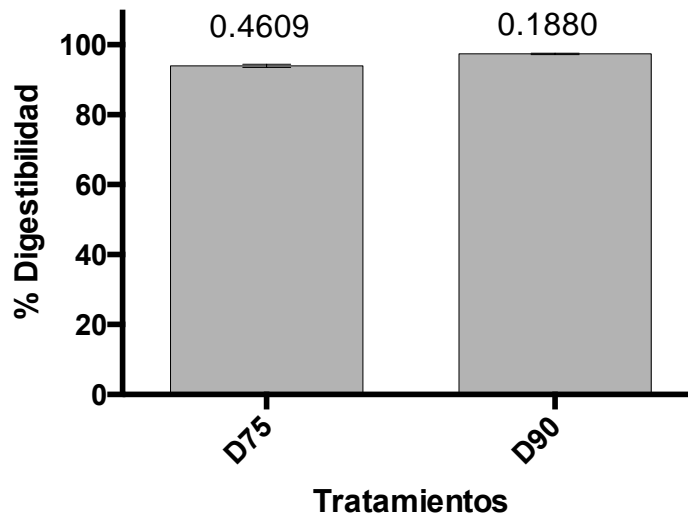


Figura 2. Coeficiente de digestibilidad aparente en crías de trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas con 75% y 90% de sustitución con APS \pm el error estándar de la media.

Consumo de oxígeno, excreción de fósforo y nitrógeno

En la Figura 3 se puede observar que el consumo de oxígeno fue mayor en los organismos alimentados con la dieta comercial, a diferencia de los organismos alimentados con la dieta con 90% de sustitución que fue el menor respecto a las otras dietas. Se encontraron diferencias significativas entre DC y D75, y entre DC y D90, pero no hubo diferencias significativas entre los tratamientos D75 y D90.

Al evaluar la excreción de nitrógeno (Figura 4), no se obtuvieron diferencias significativas. Se observó que hubo mayor excreción en el tratamiento D90 y menor excreción en el tratamiento control.

La excreción de fósforo (Figura 5) fue menor en los organismos del tratamiento D90 y aumentó en los organismos del tratamiento control; no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

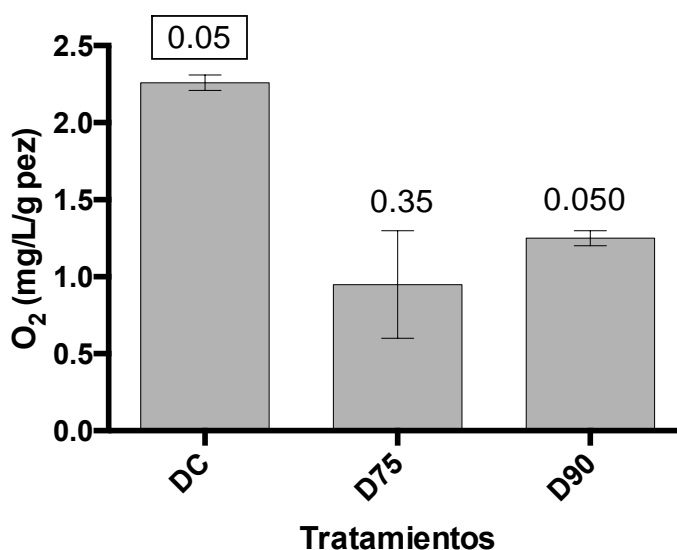


Figura 3. Consumo de oxígeno en trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas con 75% y 90% de sustitución con APS y dieta comercial \pm el error estándar de la media.

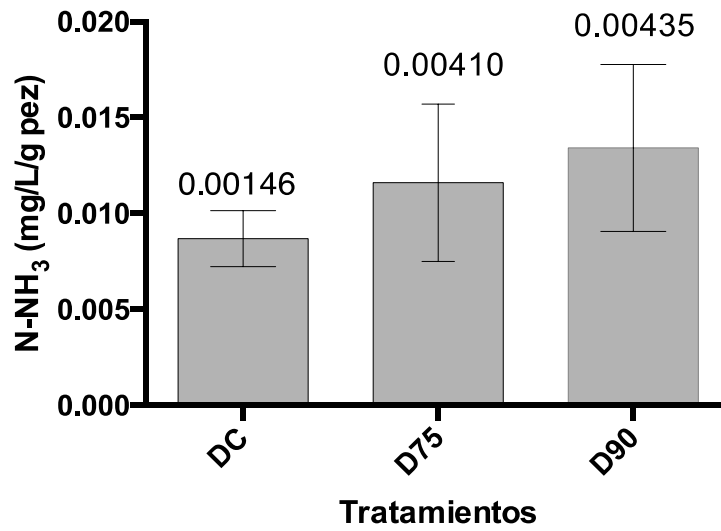


Figura 4. Excreción de nitrógeno en trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas con 75 y 90% de sustitución con APS y dieta comercial \pm el error estándar de la media.

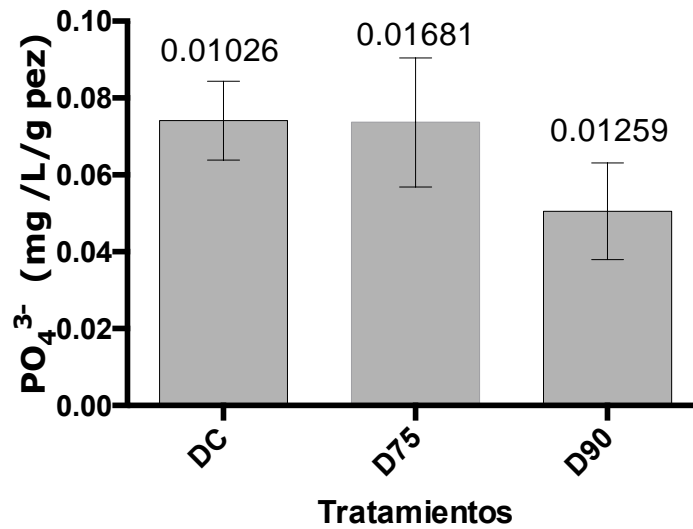


Figura 5. Excreción de Fósforo en trucha arcoíris alimentadas con dietas elaboradas con 75 y 90% de sustitución con APS y dieta comercial \pm el error estándar de la media.

Discusión

Los resultados obtenidos indican que la combinación de harina de pescado y aislado de proteína de soya es idónea hasta 75% de APS, pues en esa proporción, no afecta el crecimiento de los organismos. En contraste con los resultados obtenidos, Xu et. Al., 2012 menciona que los parámetros de crecimiento fueron significativamente bajos para los peces alimentados con la dieta de 75%, en comparación con las dietas con 0, 25, 50, 62.5, 87.5 y 100% de sustitución con APS en esturión.

La ganancia en peso fue mayor en los organismos alimentados con la dieta comercial, respecto a los tratamientos D75 y D90. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en crecimiento entre los tratamientos, se observó que conforme aumentó la inclusión de APS hubo una reducción en la ganancia en peso. Zhang 2012 refiere que es factible a un desbalance de aminoácidos esenciales presentes en proteínas de origen vegetal.

En cuanto a la TCE, no hubo variación entre los tratamientos, así pues, el aislado de proteína de soya puede sustituirse hasta un 90% en las dietas, mostrando un crecimiento similar respecto a la dieta control. Lo anterior difiere con Bilguven (2013), quien señala que la TCE incrementa en paralelo con el aumento de nivel de proteína y lípidos en las dietas.

La aceptación de las dietas experimentales por parte de los organismos y la TI semejante entre los tratamientos, sugiere palatabilidad; opuesto a Bilguven (2013), que indica que el aceite de origen animal es más palatable que el aceite vegetal. Así mismo, los resultados se relacionan a los de Ustaoglu (2006) y Refstie et al. (1997), quienes reportaron que la trucha arcoíris se habitúa a dietas con harina de soya después del periodo de adaptación, alcanzando una TI equivalente a la de las dietas con harina de pescado.

Por otro lado, la TCA obtenida osciló entre 1.69 ± 0.06 y 1.95 ± 0.09 , y se encuentra dentro de los rangos óptimos para un sistema de cultivo intensivo de trucha arcoíris de acuerdo a lo reportado por Akbulut et al. (2002). La TCA más baja se obtuvo con la D75, sin embargo, hubo una GP mayor, esto indica que, pese a un menor consumo, la dieta es mejor aprovechada que la D90 (Aguillón, 2012). La sobrevivencia se mantuvo por arriba del 85%, superando el porcentaje reportado por Verdín (2016), quien trabajó con trucha arcoíris de

una granja comercial, con concentraciones de 75% y 90% de sustitución con APS y una dieta control, a base de HP.

La TEP fue similar a la reportada por Enríquez (2015) y Aguilón (2012) y puede deberse a la utilización de los lípidos como fuente energética. Difiere de lo reportado por Bilguven (2013), que encontró que las dietas que contienen aceite de pescado proporcionan una mejor Tasa de Eficiencia de la Proteína a los peces, que las dietas con aceite de soya.

Los valores del CDA obtenidos en el presente estudio superaron el rango de 75-90%, establecido por el National Research Council (NCR, 1993), y a los valores previamente reportados por Ustaoglu y Rennert (2002), que obtuvieron un CDA de 93.6% con APS. Lo anterior, señala un mayor aprovechamiento del alimento. Por otro lado, Refstie et al. (2000) menciona que la trucha arcoíris es menos sensible a componentes que alteran la digestión y/o absorción de nutrientes.

En cuanto al consumo de oxígeno, fue mayor con la DC, y disminuyó en los organismos alimentados con D75 y aumentó en la D90, resultados que difieren de lo reportado por Verdín (2016), que obtuvo disminución en el consumo de oxígeno al aumentar el porcentaje de APS. El aumento en el consumo de oxígeno en D90 puede deberse a que a una mayor inclusión de APS, la respuesta en el consumo de oxígeno es similar a la de los alimentos comerciales (Hernández, 2009).

Por lo que se refiere a la excreción de nitrógeno, los valores más altos en D90 y más bajos en la DC. Esta variación podría atribuirse al desequilibrio de aminoácidos en las proteínas de origen vegetal, ya que la producción de amonio está influenciada por la relación de la proteína y el balance de los aminoácidos en la dieta. Los peces de ésta investigación fueron sometidos a 24 hrs de ayuno para la medición de excreción de fósforo y nitrógeno. Una posible explicación al hecho de que con la dieta control la excreción haya sido menor es que exista una mayor producción de aminoácidos digeribles, pues estos afectan la retención del N derivando una baja producción de amonio (Greene, 2002; Romarheim, 2006).

En el fósforo excretado por los organismos hubo una reducción a mayor inclusión de APS comparado con la dieta control, lo que concuerda con lo reportado Hernández (2009) y Enríquez (2014), ya que por la gran cantidad de fósforo contenida en los huesos molidos y

la forma en que se prepara la harina de pescado, no es posible que los organismos lo asimilen y, por tanto, es desechado al medio. Además, la baja disponibilidad de fósforo en las dietas de origen vegetal, provoca una disminución en su excreción.

Se observó que hay mayor excreción de nitrógeno y menor excreción de fósforo, este comportamiento se atribuye al catabolismo de las proteínas (Enríquez, 2014).

La composición corporal es un indicador de la condición fisiológica de un pez (Naeem, 2016), cabe resaltar existe poca información acerca de la composición química de peces cultivados. Por lo que se refiere a los organismos del presente trabajo, el contenido de proteína en músculo fue equivalente en DC y D90, resultados similares a los reportados por Mashaii (2012), que obtuvo porcentajes entre 17.40 ± 0.32 y 17.91 ± 0.1 en contenido de proteína en músculo de trucha arcoíris, alimentadas con dieta comercial. Los factores que afectan las características físicas de la carne de pescado como el tipo de cultivo, edad, temporada, sexo y dieta, entre otros (Rodrigues de Souza, 2015); sin embargo, en los salmónidos está influida mayormente por la composición y cantidad de la dieta suministrada (Mashaii, 2012).

El contenido de lípidos en músculo fue mayor en D90 valor similar al reportado por Sarma, (2015) que obtuvo 5.18% de lípidos en la composición de trucha arcoíris. El contenido de lípidos puede verse influenciado por la especie, la etapa de madurez y la temporada del año.

Por el contrario, el mayor porcentaje de lípidos en hígado se encontró en D75, coincidiendo con Verdín (2016). Después de la proteína, los lípidos son la principal fuente energética (Aguillón, 2012), y cuando no son metabolizados por los organismos y no son utilizados como energía, se depositan en tejidos y órganos (Richard, 2006).

Conclusiones

La proporción ideal de sustitución de HP por APS es de 75% para no afectar el crecimiento de las crías de trucha arcoíris.

La digestibilidad de la proteína resultó similar entre los tratamientos, lo que indica que la proteína es aprovechada por los organismos de la misma manera que con la dieta comercial.

El consumo de oxígeno en crías de trucha arcoíris disminuyó en los organismos alimentados con la D75, sin embargo, las fluctuaciones en los resultados se atribuyen al estrés provocado por la manipulación de los organismos.

La excreción de nitrógeno en crías de trucha arcoíris aumentó en D90, pero se atribuye a factores como el estrés por ser sometidos a 24 hrs de ayuno.

La excreción de fósforo en crías de trucha arcoíris fue menor con D90, lo que señala que la baja disponibilidad de fósforo en las dietas elaboradas con APS disminuye su excreción.

Referencias

- Adeliz P.; Rosati, R.; Warner, K.; Wu, Y.; Muench y White, Brown, P. 1998. Evaluation of fishmeal free diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*. 4:255-262.
- Aguillón, H. O. 2012. Efecto del aislado de proteína de soya y polvo de Spirulina como fuentes de proteína en el crecimiento, excreción de fósforo (P) y nitrógeno (N) en la tilapia híbrida *Oreochromis sp.* Tesis de Licenciatura. México. UNAM.
- Akbulut B., Temel S., Nilgun A., Muharrem A. 2002. Effect of Initial Size on Growth Rate of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in Cages on the Turkish Black Sea Coast. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2: 133-136.
- Alvarado H. 1995. Sustitución de la Harina de Pescado por Harina de Carne y Hueso en alimentos para truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Zootecnia Tropical*. 13 (2): 233-243.
- Alyshbaev A. 2013. Feeding Level Effect on the Growth of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings. Pro Gradu Thesis. University of Eastern Finland. Department of Biology. Faculty of Science and Forestry.
- AOAC (1995) Official Methods of Analysis. 16ª Edición. Volumen 1. Arlington. VA.
- Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segment of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*. 13: 265-272.
- Bilguven M. 2013. The Effects of Different Dietary Protein and Lipid Levels and Oil Sources on the Growth Performance and Body Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1st Annual International Interdisciplinary Conference.
- Bergheim A., Edward A. S., Steinar S., Torbjorn T. 1991. Measurements of Oxygen Consumption and Ammonia Excretion of Atlantic Salmon (*Salmo salar L.*) in
- Bligh, E. G. y W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37 (8): 911-917
- Bureau, D.P. y C. Y. Cho. 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): estimation of dissolved phosphorus waste output. *Aquaculture*, 179: 127-140.

- CONAPESCA, Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2014, CONAPESCA. En: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca el 10 de septiembre de 2014.
- Cruz Suárez, L. E., Ricque Marie, D. y Mendoza Alfaro, R. editores. 1999. Bioenergética en la formulación de dietas estándares de alimentación para la acuicultura del salmón: principios, métodos y aplicaciones. Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposio Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos. 1999. 11-13 noviembre, 1996. Monterrey, N.L., México. ISBN 968-7808-62-4. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N. L. México. Pp 33-64
- Drew, M.D., T.L. Borgeson y D.L. Thiessen. 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Animal Feed Science and Technology*, 138:118-136.
- Eaton, A.E., L.S. Clescerl & A.E. Greenberg. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. American Public Health Association. Washington, D.C., U.S.A.
- FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma.
- Francis G., P.S. Harinder, K. Becker. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199: 197-227.
- Furukawa, A & H. Tsukahara. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic acid as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 32: 502-506.
- García D., I. Gallego. , A. Espinoza., A. García., C. Arriaga. 2013. Desarrollo de la producción de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en el Centro de México. *AquaTIC*, 38: 46-56. Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.
- Green J.A., R.W. Hardy y E.L. Brannon. 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1. Laboratory- scale study. *Aquaculture Nutrition* 8; 279-290.
- Greene D., D. P. Selivonchick. 1990. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 89: 165-182.
- Hernández, F. G. 2009. Efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de soya (*Glycine maxima*) y polvo de Spirulina en el crecimiento y excreción de fósforo y

nitrógeno de juveniles de trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*. Tesis de Licenciatura. México. UNAM.

Hernández, F. G. 2014. Efectos de la sustitución total de harina de pescado por harina de soya (*Glycine maxima*) y polvo de Spirulina en juveniles de especies acuícolas de importancia comercial. Tesis de Maestría. México. UNAM.

Junming D., X. Zhang, X. Long, L. Tao, Z. Wang, G. Niu, B. Kang. 2014. Effects of dietary cholesterol supplementation on growth and cholesterol metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with cottonseed meal or rapeseed meal. *Fish Physiology and Biochemistry*.

Lazzari R., Bernardo B. 2008. Nitrogen and Phosphorus Waste in Fish Farming. *B. Inst. Pesca, Sao Paulo*. 34 (4): 591-600.

López J. 1997. Aquafeeds and the environment. *Feeding tomorrow's fish*. CIHEAM. 22: 275-289.

Martínez-Palacios C.A., M. C. Chávez- Sánchez, M.A.Olvera-Novoa. 1996. Fuentes alternativas de proteínas vegetales como substitutos de la harina de pescado para la alimentación en acuicultura. FAO. En: <http://www.fao.org/docrep/003/t0700s/T0700S02.htm> el 10 de septiembre de 2014.

Mashaii N., Mohammad M., Habib S., Farhad R., Ahmad G., Ahmad B., Hasan M. 2012. Proximate and fatty acid composition in muscle tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Yazd province of Iran. *Walailak J Sci & Tech*. 9 (4): 317-325.

Naaem M., A. Salam, A. Zuberi. 2016. Proximate composition of freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to body size and condition factor from Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 53(2), 468-472.

Olvera- Novoa, M.A. Martínez- Palacios, C.A. Real de León, E. 1993. Manual de Técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Proyecto Aquila II. FAO-Italia.

Olvera-Novoa, M. A. y L. Olivera-Castillo. 2000. Potencialidad del uso de las leguminosas como fuente proteica en alimentos para peces.

En: <http://www.fao.org/3/contents/a982de1c-98df-5e67-a0cb-1e92724d2822/AB489S03.htm#ch3.1> el 10 de septiembre de 2014.

Palmegiano G.B., Daprà F., Forneris G., Gai F., Gasco L., Guo K., Peiretti P.G., Sicuro B., Zoccarato I. 2006. Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 357-367 pp. 258.

- Pillay. T.V.R. 1992. *Aquaculture and the Environment*. John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA.
- Refstie S., Stale J. Helland, T. Storebakken. 1997. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 153: 263-272.
- Rodrigues de Souza. M., Elisabete M., Jener S., Maria B., Elenice R. 2015. Processing yield and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with regard to body weight. *Maringá*. 37:2: 103-108.
- Romarheim O., Anders S., Youling G., Ashild K., Vegard D., Einar L., Trond S. 2006. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fishmeal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 256: 354-364.
- SAGARPA. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2011. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. En: <http://www.gbcbiotech.com/genomicaypesca/documentos/industria/SAGARPA%20Anuario%20Estadistico%20de%20Acuicultura%20y%20Pesca%202011.pdf> el 10 de septiembre de 2014.
- Sarma D., P.Dhar. P.Das, H. Bish, M. Akhtar, A. Ciji. 2015. Fatty acid, amino acid and mineral composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of Indian Himalaya. *Indian J. Anim. Res.* 49 (3): 399-404.
- Sener E., M. Yildiz. 2003. Effect of the different oil on growth performance and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) juveniles. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 3: 111-116.
- Ustaoglu S., B. Rennert. 2006. Effects of partial replacement of fishmeal with isolated soy protein on digestibility and growth performance in sterlet (*Acipenser ruthenus*). *The Israeli Journal of Aquaculture*. 58(3), 170-177.
- Valenzuela A., J. Sanhueza, F. de la Barra. 2012. El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional. *Rev Chil Nutr.*; 39: 2.
- Verdín, F. J. 2016. Efecto de dietas con contenido de proteína y lípidos de origen vegetal en respuestas fisiológicas de crías de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) obtenidas de una granja comercial. Tesis de Licenciatura. México. UNAM.
- Xu. Q. Y., C. A. Wang, Z. G. Zhao and L. Luo. 2012. Effects of replacement of fishmeal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical

parameters for juvenile amur sturgeon (*Acipense schrenckii*). Asian Australasian Association of Animal Production Societies. 25 (11), 1588-1594.

Zhang Y., Margareth O., Karl D. Shearer, Mette S., Liv T. M., Trond S. 2012. Optimizing plant protein combinations in fish meal-free diets for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). Aquaculture. 360-361; 25-36.

ANEXOS

CONTENIDO DE CENIZAS (AOAC 1990)

Material y equipo

- Mufla
- Desecador
- Balanza analítica
- Crisol
- Pinzas para crisol
- Guantes de látex

Procedimiento

- 1) Pesar la cantidad de muestra seca. Colocar la muestra en un crisol de porcelana.
- 2) Introducir el crisol en la mufla a 550°C por 6-8 horas hasta que la muestra cambie a un polvo blanco y dejar enfriar hasta los 100°C.
- 3) Enfriar el crisol en un desecador y posteriormente, pesar.
- 4) Calcular el porcentaje de cenizas con la siguiente fórmula.

$$\text{Cenizas (\%)} = (\text{peso de las cenizas} / \text{peso de la muestra}) * 100$$

CONTENIDO DE HUMEDAD

- Material y equipo
- Horno de convección
- Balanza analítica
- Crisol
- Pinzas para crisol
- Guantes de látex

- 1) Colocar los crisoles en el horno de convección para eliminar la humedad y evitar variaciones en el peso.
- 2) Obtener el peso inicial de la muestra húmeda.
- 3) Poner a secar la muestra en un horno de convección a 100°C por 4 horas.
- 4) Sacar la muestra del horno y pesar.
- 5) Introducir la muestra nuevamente en el horno por una hora.
- 6) Sacar la muestra del horno y pesar.
- 7) Continuar secando a intervalos de una hora hasta que el peso sea constante, este valor será el peso final.
- 8) Sacar el porcentaje de humedad total con la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = (1 - (\text{Peso inicial} / \text{peso final})) * 100$$

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA POR KJELDAHL

Preparar:

- Solución neutralizadora de ácidos: 2L NaOH 15% para el extractor.
- Solución alkali: 5L NaOH 40 % que va en el bidón conectado al destilador.
- Solución indicadora: (0.22g Rojo de Metilo/ 100 mL de etanol) + (0.11 g Verde de bromocresol/50 mL de Etanol) de la cual se tomarán 17 mL para la siguiente solución.
- Solución de ácido bórico: (40 g H₃BO₃/700 mL agua) + 200mL etanol+17 mL de Sol. C. Aforar a 1L
- Solución 1L de Ácido Sulfúrico 0.1N (0.05M)
- Ácido sulfúrico concentrado (96%) 15mL/muestra
- 2 Kjeltabs/muestra
- Sulfato de amonio seco (0.15g) en horno y almacenado en desecador.

Digestión:

❖ DEJAR 1 TUBO CONTROL SIN MUESTRA, CON ÁCIDO, SIN KJELTABS

- 1) Conectar el extractor y agregar la solución neutralizadora de ácidos y agua a los depósitos del extractor hasta el nivel indicado.
- 2) Colocar 1 g de muestra seca homogenizada en cada tubo.
- 3) Añadir Kjeltabs o mezcla reactiva.
- 4) Agregar 15 mL de H₂SO₄ concentrado.
- 5) Subir la temperatura del digestor a 420 °C. Cuando la temperatura esté a 200 °C, colocar los tubos. Iniciar el programa y digerir por 1 hora.
- 6) Encender y modular cuando el gas de H₂SO₄ comience a evaporar.
- 7) Sacar el rack cuando la temperatura baje y colocar sobre un colchón de franela seca para evitar que los tubos se estrellen por choque térmico.
- 8) El color del ácido debe ser verde-azul, sin precipitados.
- 9) Agregar 70 mL de agua a cada tubo.

Destilación:

- 1) Colocar un tubo limpio con agua destilada hasta la mitad. En el otro soporte, colocar un matraz limpio de 250mL.
- 2) Encender el destilador y purgar presionando el botón de calentado. Este paso debe repetirse al inicio y al final de cada destilación.
- 3) Enjuagar entre cada muestra, presionando el botón de calentado.
- 4) Colocar 25 mL de solución de ácido bórico en 8 matraces de 25 mL, rotulados, correspondientes a cada tubo.
- 5) Colocar control de ácido y matraz*.
- 6) Programar el destilador: presionar botón de arranque y sin soltar, encender; sin soltar, programar mL de NaOH y tiempo; apretar el botón de marcha.
- 7) Sacar los tubos (con guantes de carnaza).
- 8) Blanco de sulfato de amonio: agregar 75 mL de agua y 50 mL de NaOH 40% y destilar.

*El control se realiza con sulfato de amonio seco (0.15g).

Titulación:

Colocar el matraz en el agitador magnético. Titular con ácido sulfúrico 0.1 N de color rojo a café.

Calcular con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Nitrógeno} = (\text{ml muestra} - \text{ml blanco}) * 140.07 / \text{mg muestra}$$

$$\% \text{ de recuperación} = (\% \text{Nitrógeno} / \% \text{Nitrógeno del control}) * 100$$

LÍPIDOS TOTALES (BLIGH AND DRYER, 1959)

Reactivos

- Cloroformo
- Metanol

Material y equipo

- Homogeneizador
- Balanza Analítica
- Vasos De Precipitados
- Tubos De Ensaye
- Pipetas
- Embudo De Separación
- Frasco Vial

Procedimiento

- 1) Preparar un vaso con hielo
- 2) Pesar un tubo de ensaye, calibrar a 0 la balanza, colocar el tejido y obtener el peso de la muestra seca.
- 3) Colocar el tubo con el tejido en el vaso con hielo
- 4) Agregar 1.5 mL de cloroformo y 3 mL de metanol; homogenizar por dos minutos
- 5) Agregar 1.5 mL de cloroformo y homogenizar por dos minutos.
- 6) Vaciar la mezcla de cloroformo-metanol en un tubo para
 - Centrifugar a 5000 rpm por 15 min, o bien
 - Filtrar la muestra y lavar el filtro dos veces con una mezcla de cloroformo-metanol (1:1 v/v) y agregar el lavado a la muestra.
- 7) Vaciar la muestra al embudo de separación

- 8) Agregar 0.8 mL de agua destilada para mantener una proporción con la mezcla cloroformo- metanol de 0:8:1.
- 9) Agitar vigorosamente y dejar reposar unos segundos para que se formen dos fases; sino se forman agregar metanol gota por gota o bien agua destilada gota por gota hasta que se formen.

Para retirar el cloroformo y conservar solo los lípidos se pone a secar con una corriente de aire.

En el frasco quedará una capa amarilla; obtener el peso total de los lípidos (peso inicial del frasco- peso final del frasco)

Para obtener el porcentaje total de lípidos se utiliza la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Total de lípidos} = (\text{peso total de lípidos/ peso de la muestra seca}) * 100$$

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO Y NITRÓGENO EXCRETADOS

Método de Nessler para determinación de nitrógeno

- 1) Seleccionar el programa 380, N, Amonia Ness en el espectrofotómetro HACH
- 2) Preparar el blanco con 10 mL de agua desionizada
- 3) Colocar 10 mL de la muestra de agua en un vaso de precipitados y agregar 2 gotas de estabilizador mineral en cada recipiente. Posteriormente, agregar 2 gotas de agente de dispersión de alcohol polivinílico y mezclar. Agregar 1 mL con pipeta de reactivo de Nessler en cada recipiente y mezclar.
- 4) Reposar durante 1 minuto
- 5) Transferir el blanco a la cubeta de vidrio, introducir al espectrofotómetro, presionar “ZERO” para ajustar a cero.
- 6) Introducir cada muestra en el espectrofotómetro y presionar “READ” para medir.

Determinación de fósforo

- 1) Seleccionar el programa 480 P React Mo
- 2) Preparar el blanco agregando en un vaso 10 mL de agua destilada.
- 3) Preparar las muestras de agua vertiendo 10 mL de cada muestra en un vaso de precipitados.

- 4) Agregar 0.5 mL de reactivo de Molibdovanadato en cada una de las muestras y el blanco.
- 5) Reposar por 7 min
- 6) Introducir el blanco y ajustar a cero.
- 7) Medir cada muestra.