

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EVALUACION NUTRICIONAL DE DIFERENTES LEVADURAS
COMO FUENTES DE PROTEINA Y/O PROBIOTICO EN
LA ALIMENTACION DEL CAMARON BLANCO

Penaeus vannamei

Por

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

GABRIEL AGUIRRE GUZMAN

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

Biólogo

Universidad Autónoma de Nuevo León

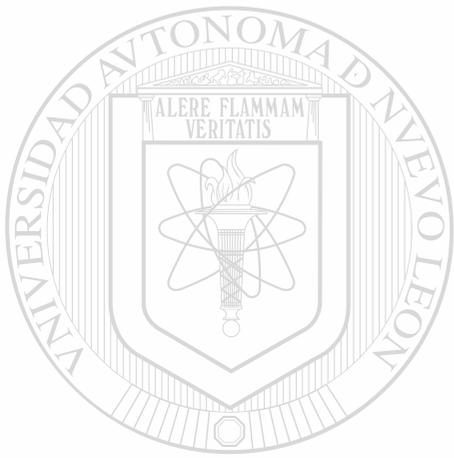
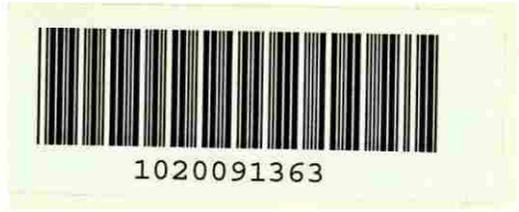
Monterrey, Nuevo León

1990

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS con Especialidad en
Ecología Acuática y Pesca.

Enero, 1994

TM
Z532
FCB
1994
A3



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



EVALUACION NUTRICIONAL DE DIFERENTES LEVADURAS
COMO FUENTES DE PROTEINA Y/O PROBIOTICO EN
LA ALIMENTACION DEL CAMARON BLANCO
Penaeus vannamei

Por

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

GABRIEL AGUIRRE GUZMAN

Biólogo

Universidad Autónoma de Nuevo León

Monterrey, Nuevo León

1990

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS con Especialidad en
Ecología Acuática y Pesca.

Enero, 1994

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

EVALUACION NUTRICIONAL DE DIFERENTES LEVADURAS
COMO FUENTES DE PROTEINA Y/O PROBIOTICO EN LA
ALIMENTACION DEL CAMARON BLANCO *Penaeus vannamei*

Por

GABRIEL AGUIRRE GUZMAN

Biólogo

Universidad Autónoma de Nuevo León

Monterrey, Nuevo León

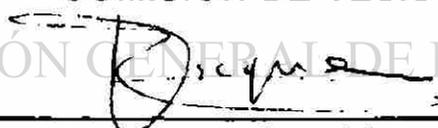
1990

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS con Especialidad en
Ecología Acuática y Pesca.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

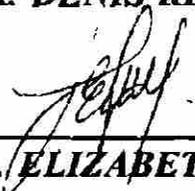
COMISION DE TESIS

DIRECTOR :-



DR. DENIS RICQUE MARIE.

CODIRECTOR :



DRA. L. ELIZABETH CRUZ SUAREZ.

VOCAL :

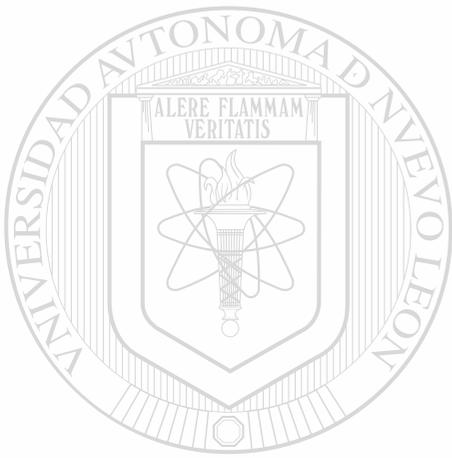


DR. LUIS J. GALAN WONG.

MONTERREY, N.L.

ENERO DE 1994

TM
25320
F P
1 94
A3



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

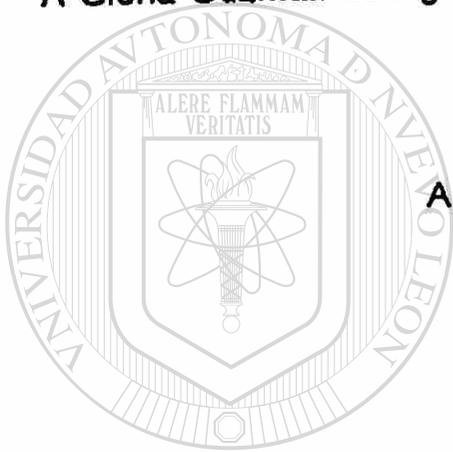


FONDO TESIS

33067

A Gabriel Aguirre Hernández

A Gloria Guzmán de Aguirre



A Alberto

A Alejandro

A Daniel

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

y a David.



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Por el apoyo que siempre
me demostraron y brindaron.**

AGRADECIMIENTOS

Mis más profundos agradecimientos al Dr. Denis Ricque Marie, a la Dra. L. Elizabeth Cruz Suárez y al Dr. Luis J. Galán Wong por todo su apoyo y dirección en la realización del presente estudio.

Le agradezco especialmente a la M. en C. Ma. Magdalena Iracheta Cárdenas, por todos sus consejos y la paciencia que tubo conmigo al enseñarme las técnicas de microbiología.

Le agradezco a la M. en C. Lucia Leticia Palacios Cortez por todo la ayuda que me brindo al trabajar con el fermentador.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Maricultura y de generación, juntos realizamos muchos trabajos y hemos pasado por diversos problemas, no saben lo que han logrado hacer conmigo en todo el tiempo que hasta ahora hemos compartido, siempre serán parte de mi.

A todo el personal del Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo (Dr. H.T. Dulmaga) y al Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por todo el tiempo, ayuda y enseñanzas que me dieron durante el tiempo que duro mi estancia en sus laboratorios.

Agradezco en especial consideración a la M. en C. Hilda Garza Fernández por su considerable ayuda y consejos en la utilización del equipo de laboratorio.

Al Dr. Carlos Aguilera Medrano y su esposa la Lic. Eva Rodríguez Rodríguez, son dos personas con una mentalidad muy positiva, muchas gracias por su apoyo y por todo lo que me enseñaron.

Agradezco especialmente a las compañía de SAFMEX, en Toluca, y a NUTRIPAC, en Culiacán, México, por permitirme utilizar sus instalaciones y equipos al realizar este trabajo.

A todos los maestros de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por el tiempo que me brindaron y por compartir sus conocimientos conmigo y mis compañeros de escuela.

Agradezco al CONACYT, por su apoyo económico a la realización de este proyecto (proyecto clave 476100-5-14701470N9207).

DEDICATORIA

A mi

Ma. Trinidad González Váldez

Por la confianza, apoyo, paciencia, comprensión y por todo el amor que siempre me brindastes, por todo el valioso tiempo que no pude dedicarte y que sin el, no hubiera sido posible alcanzar ésta etapa tan importante en mi desarrollo y superación personal y profesional.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



LISTA DE ABREVIATURAS

HCl	Acido Clorhídrico.
$\omega 3$	Acidos Grasos Omega 3 (linolenicos).
ARN	Acido Ribonucleico.
TCBS	Agar de Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa.
α	Alfa.
Aprox.	Aproximadamente.
c/u	Cada uno.
c	Camarón.
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celcius.
Cél	Célula.
CEN	Ceniza.
cm	Centímetro.
Y(x/s)	Coefficiente de Rendimiento Celular (Gramos de Células Secas / Gramos de Sustrato).
Com. Pers.	Comunicación Personal.
\$ m.n./Kg	Costo en m.n./Kg de Alimento (Nuevo Peso).
CCA	Costo por kg de Camarón Producido.
CCAt	Costo por kg de Camarón Producido Teórica.
DO	Demanda de Oxígeno.
DB	Dieta Base.
EE	Error Estándar.
etc	Etcétera.
ELN	Extracto Libre de Nitrógeno.
FACT	Factor.
FCB	Facultad de Ciencias Biológicas.
g	Gramo.
H	Harina.
ha	Hectárea.
NaOH	Hidróxido de Sodio.
hr	Hora.
=	Igual que.
INACT	Inactivación.
IFREMER	Instituto Francés de Investigación y Experimentación del Mar (Abreviación del Francés).
kg	Kilogramo.
LIP	Lípido.
l	Litro.
MR	Marca Registrada.
<	Menor que.
m	Metro.
Mez.	Mezcla.
μm	Micrometro.
mg	Miligramo.
ml	Mililitro.

mm	Milímetro
min	Minuto.
m.n.	Moneda Nacional.
N	Nitrógeno.
NNA	Nitrógeno no Proveniente de Aminoácido.
N	Normalidad.
N\$	Nuevo Peso.
No.	Número.
NCVB	Número de Células Viables.
NCTO	Número de Células Totales.
A.O.A.C.	Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
ppm	Partes por Millón (Abreviación del Ingés).
ppt	Partes por Mil (Abreviación del Inglés).
PMS	Perdida de Materia Seca en el Agua.
PC	Personal Computer.
Pi	Peso Inicial.
Pf	Peso Final.
P.H.	Peso Húmedo.
P.S.	Peso Seco.
%	Por ciento.
p ej	Por Ejemplo.
pH	Potencial de Hidrógeno.
Prob.	Probabilidad.
PROT	Proteína.
RPM	Revoluciones por Minuto.
Sepesca	Secretaría de Pesca.
seg	Segundo.
sp	Sin Especie.
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences.
TCA	Tasa de Conversión Alimenticia.
TCA _t	Tasa de Conversión Alimenticia Teórica.
TC	Tasa de Crecimiento.
TS	Tasa de Supervivencia.
ton	Tonelada.
UFC	Unidad Formadora de Colonia = CFU (siglas en inglés).
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León.
Vit.	Vitamina.
VVM	Volumen de Aire por Volumen de Medio de Cultivo por Minuto.
<u>et al</u>	Y Asociados (Abreviación en Latín).
Y cal	Y Calculada.

RESUMEN

Las levaduras han sido usadas en nutrición animal como macroingredientes, fuentes de proteína de alta digestibilidad y de vitaminas del grupo B, o como aditivos promotores de crecimiento de tipo probiótico. En alimentos para camarón, el remplazo de las principales fuentes de proteína por proteína unicelular de levadura no ha sido investigado de manera extensiva, aunque ya se mencionaron niveles máximos de inclusión del 5% para las levaduras de cervecerías, debido a su baja palatabilidad. Por otro lado, el efecto promotor del crecimiento de las levaduras vivas para camarón no ha sido demostrado. En la primera parte de este trabajo, dos levaduras del género *Saccharomyces* (*S. cerevisiae* seca producida comercialmente sobre melaza de caña, y *S. exiguus* húmeda producida experimentalmente por la FCB-UANL sobre etanol sintético) fueron incorporadas al 15 o 30% en cuatro dietas compuestas isoprotéicas e isolípídicas con el objetivo de determinar su eficiencia nutricional como sustituto de las dos principales fuentes de proteína: harina de pescado y pasta de soya. Esas cuatro dietas y un control fueron evaluadas durante un bioensayo de 28 días en juveniles de *P. vannamei* (peso promedio de 1.3g) en un medio controlado. El crecimiento fué más alto solamente para las dietas con *S. cerevisiae* (significativamente con el nivel de inclusión de 30%), sin cambio significativo en la tasa de conversión no obstante que los alimentos con levaduras mostraron una importante pérdida de materia seca en el agua. La estabilidad en el agua de las dietas con *S. exiguus* fué particularmente baja en consecuencia del exceso de humedad en la mezcla de ingredientes al momento de extrusión del alimento y posiblemente no permitió observar el beneficio de la alta calidad de la proteína de levadura. En la segunda parte del trabajo, diferentes dietas elaboradas con *S. cerevisiae* seca activa aglomerada con diferentes tamaños de partícula (fina, intermedia y gruesa) fueron incorporadas al 0.1, 0.5 y 1% en dietas preparadas en un planta comercial (pelatizadas) y en el laboratorio (extrusión húmeda en un molino de carne), con el objetivo de estudiar su resistencia al proceso, conservación y lixiviación así como su efecto sobre la estabilidad del pellet en el agua. La cantidad de levaduras totales (microscopía) o viables (conteos en agar Malta) fueron determinados en muestras de alimento tomadas en diferentes etapas del proceso indicando, en cuanto a la cantidad de levaduras viables, pérdidas de dos potencias de 10 debido a la peletización o de 6 potencias de 10 debido a la extrusión. La lixiviación en el agua contribuyó a una pérdida de una potencia de 10. La levadura fina tuvo un mejor resistencia a la peletización que la levadura gruesa (10^5 vs 10^4 UFC/g de alimento para la dosis al 0.1%). Generalmente el número total para levaduras fué 10 veces superior al número de viables. La estabilidad de las dieta en el agua no fué modificada por la inclusión de levaduras aglomeradas. Tres dietas (control, levadura fina al 0.1% y levadura gruesa al 0.1%) fueron seleccionadas para evaluar el efecto promotor del crecimiento sobre juveniles de *P. vannamei* (peso promedio de 3.8g) y para determinar la presencia de *S. cerevisiae* en el tracto intestinal así como su efecto eventual en la flora bacteriana del mismo. La conversión alimenticia fue mejorada significativamente con la levadura fina, aunque ningún cambio se logro observar en la flora bacteriana ni en los conteos de levadura en el intestino. Finalmente se concluye que las levaduras *S. cerevisiae* y *S. exiguus*, son un excelente ingrediente de alimentos para camarón aún a niveles de incusion tan altos como el 30%, y que las levaduras vivas a muy bajo nivel de inclusión (0.1%) pueden mejorar la tasa de conversión.

ABSTRACT

Yeasts have been used in animal nutrition as macroingredients source of high digestibility protein and B group vitamins, or as probiotic growth promotor additives. In shrimp feeds, replacement of the principal protein sources by yeast unicellular protein has not been extensively tried, although maximum inclusion levels of 5% were mentioned for the brewer's yeasts due to their low palatability. On the other hand, the potentially growth promotor effect of live yeasts in shrimps remains to be demonstrated. In the first part of this work, two *Saccharomyces* yeasts (dried *S. cerevisiae* commercially produced on sugar cane molasses, and concentrated wet *S. exiguus* experimentally produced at FCB/UANL on synthetic ethanol) were incorporated at 15 and 30% levels in four isoproteic and isolipidic compound diets in order to determine its nutritional efficiency as a substitute of the two principal dietary protein sources: fishmeal and soybean meal. The four diets and a control were evaluated during a 28 days feeding trial on *Penaeus vannamei* juveniles (1.3g mean weight) in a controlled environment at the FCB/UANL shrimp bioassay facility. Growth was higher only for the *S. cerevisiae* diets (significantly for the 30% inclusion level), without significant change in the feed conversion rate, although the yeast feeds had a higher loss of dry matter in the water. The stability of the *S. exiguus* diets was particularly low, as a consequence of the excess of humidity in the ingredient mixture during the diet extrusion, and possibly did not allow the expected benefit of the yeast protein quality. In second part, different feed of dry, active, agglomerated *S. cerevisiae* of different particle sizes (fine, intermediate and gross) were incorporated at 0.1, 0.5 and 1.0% levels in diets prepared at a commercial plant (pelletized) or at the laboratory (wet extrusion in a meat grinder), in order to check their resistance to the process, conservation and immersion in water, and their effect on the pellet stability in the water. Total yeasts (microscopy) and viable yeasts (counts on Yeast Medium Agar) were determined in feed samples at different stages of the process, indicating for viable yeasts numbers a 100 fold decrease due to the industrial pelletization and a 10^6 fold decrease due to the wet extrusion. Leaching in water added a 10 fold loss. Fine yeast had a better resistance to pelletizing than gross yeast (10^5 vs 10^4 cfu/g feed at the 0.1% inclusion level). Generally, total yeast numbers were 10 fold the viable numbers. Diet stability in the water was not modified by the inclusion of the yeast agglomerate. Three diets (control, 0.1% fine yeast and 0.1% gross yeast) were selected to evaluate the growth promotor effect on *P. vannamei* juveniles (3.8g mean weight) and to determine the presence of *S. cerevisiae* in the digestive tract as well as its eventual effect on the gut bacterial flora of the shrimp intestinal tract. Feed conversion was significantly bettered with the fine yeast diet, although no significant changes were observed neither on the bacterial flora, nor on the yeast counts. In conclusion, it can be suggested that yeasts *S. cerevisiae* y *S. exiguus* are an excellent ingredient for shrimp feeds, even at inclusion levels of 30%, and that live yeasts at very low levels (0.1%) can better the feed conversion.

INDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
INTRODUCCION	1
HIPOTESIS	2
OBJETIVOS GENERALES	2
ANTECEDENTES	3
PRODUCCION DE CAMARON	3
USO DE LEVADURAS	4
COMO FUENTE DE PROTEINA	4
ACUACULTURA	4
EN ALIMENTOS PARA ENGORDA DE CAMARON ..	6
PARA LARVAS DE CAMARON	8
PROBIOTICOS	9
COMO ADITIVOS EN ALIMENTACION PECUARIA	10
USOS EN ACUACULTURA	11
SOBREVIVENCIA DE LA LEVADURA AL PROCESO. ...	11
MICROORGANISMOS EN EL TRACTO INTESTINAL	
DE CRUSTACEOS	13

I.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO FUENTE DE PROTEINA

OBJETIVOS PARTICULARES	15
MATERIAL Y METODO	15
AREAS DE TRABAJO	15
DIETAS	15
MATERIAS PRIMAS E INGREDIENTES ESPECIALES	16
ANALISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS ..	16
LEVADURA EXPERIMENTAL	16
CONDICIONES DE TRABAJO EN EL FERMENTADOR	16
LEVADURA CONTROL	17
FABRICACION DEL ALIMENTO EXPERIMENTAL	17
LIXIVIACION DEL ALIMENTO	18
ESQUEMA BASICO DE LIXIVIACION.	19
CONDICIONES EXPERIMENTALES	19
SALA DE BIOENSAYOS PARA CAMARON	19
PARAMETROS FISICOQUIMICOS	20
ORGANISMOS	20
ORIGEN	20

DISTRIBUCION	20
MANEJO DIARIO	21
PARAMETROS BIOLÓGICOS	21
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
FACTIBILIDAD ECONÓMICA	22
RESULTADOS	23
ANÁLISIS PROXIMAL	23
VIABILIDAD DE LA LEVADURA <i>S. exiguus</i>	25
LIXIVIACIÓN	25
BIOENSAYO	25
COSTOS	27
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	28
ANÁLISIS DE INGREDIENTES Y DIETAS	28
VIABILIDAD DE LA LEVADURA	28
LIXIVIACIÓN	28
CONSUMO DE ALIMENTO	29
TASA DE CRECIMIENTO	29
TASA DE CONVERSIÓN ALIMENTICIA	30
COSTOS	30

II.- PRUEBAS DE VIABILIDAD DE LA LEVADURA ACTIVA

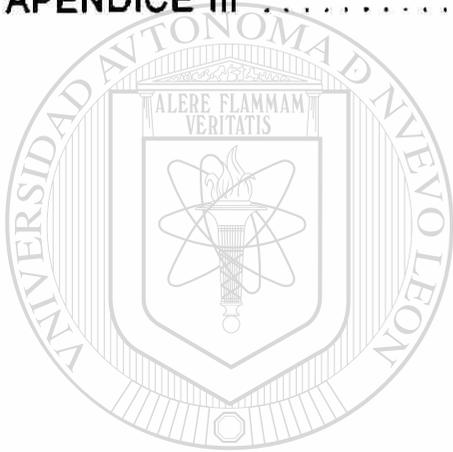
OBJETIVOS PARTICULARES	31
MATERIAL Y MÉTODO	31
LEVADURA BIOSAF	31
ANÁLISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS	31
FABRICACIÓN DE DIETAS PELETIZADAS	32
FABRICACIÓN DE DIETAS EXTRUIDAS	32
PRUEBAS DE VIABILIDAD	33
LIXIVIACIÓN DEL ALIMENTO	33
VIABILIDAD EN DIETAS LIXIVIADAS A DIFERENTE SALINIDAD Y TIEMPO	33
RESULTADOS	34
DISOLUCIÓN DEL GRANULO DE LEVADURA EN LA DIETA	34
VIABILIDAD	34
DE LA LEVADURA PURA	34
TEÓRICA EN LAS MEZCLAS	34
EN LAS DIETAS PELETIZADAS	35
EN LAS MEZCLAS REALIZADAS EN LABORATORIO	36
EN LAS DIETAS EXTRUIDAS	37
EN LAS DIETAS LIXIVIADAS	39
DESPUES DEL ALMACENAMIENTO	40
EN LA FABRICACIÓN, ALMACENAMIENTO Y LIXIVIACIÓN	

DE LAS DIETAS.	40
INACTIVACION DE LA LEVADURA EN LAS DIETAS PELETIZADAS Y EXTRUIDAS	41
LIXIVIACION	41
DISCUSION Y CONCLUSION	43
EFFECTO DOSIS DE LA LEVADURA EN LAS DIETAS	43
EFFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA	43
EFFECTO DE LOS DIFERENTES PROCESOS	43
MEZCLADO	44
EXTRUSION	44
PELETIZACION	44
LIXIVIACION	45
ALMACENAMIENTO DE LAS DIETAS	45

III.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO PROBIOTICO

OBJETIVOS PARTICULARES	46
MATERIAL Y METODO	46
AREAS DE TRABAJO	46
DIETAS	46
MATERIAS PRIMAS Y FORMULACION	47
ANALISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS ..	47
LIXIVIACION DEL ALIMENTO	47
CONDICIONES EXPERIMENTALES	47
SALA DE BIOENSAYOS PARA CAMARON	47
PARAMETROS FISICOQUIMICOS	48
ORGANISMOS	48
ORIGEN	48
DISTRIBUCION	48
MANEJO DIARIO	48
CONTEO DE MICROORGANISMOS EN EL TRACTO	
INTESTINAL	49
LEVADURAS	49
VIBRIOS	50
BACTERIAS HETEROTROFAS TOTALES	50
EVALUACION BIOLOGICA	50
ANALISIS ESTADISTICO	50
FACTIBILIDAD ECONOMICA	50
RESULTADOS	51
ANALISIS PROXIMAL Y DE LIXIVIACION	51
PRUEBAS BIOLOGICAS	52
MICROBIOLOGICOS	53
ZOBEL	54

MALTA	54
DISCUSION	58
ANALISIS PROXIMAL, MEZCLADO Y COMPOSICION PRIMARIA DE LA MEZCLA	58
CRECIMIENTO	58
CONSUMO DE ALIMENTO Y TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA	59
MICROBIOLOGICOS	60
CONCLUSION	62
RECOMENDACIONES	63
LITERATURA CONSULTADA	64
APENDICE I	70
APENDICE II	75
APENDICE III	77



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Sobrevivencia de <i>S. cerevisiae</i> pura (Yea-Sacc) a 85°C, durante diferentes intervalos de tiempo, en muestra con diferente contenido de humedad.	13
2	Análisis proximal de las dietas elaboradas con levadura <i>S. exiguus</i> y Levina.	24
3	Tasa de Conversión Alimenticia, de Crecimiento y Sobrevivencia de los camarones (28 días de bioensayo).	26
4	Viabilidad de la levadura Biosaf pura.	34
5	Células totales en dietas peletizadas. Las dos barras del mismo dibujo representan conteos duplicados realizados a partir de la misma muestra.	35
6	Células viables en dietas peletizadas.	36
7	Células totales de levadura Biosaf en las premezclas del las dietas extruidas.	37
8	Células viables de levadura Biosaf en las premezclas del las dietas extruidas.	37
9	Células totales de la levadura Biosaf en dietas extruidas.	38
10	Células viables de la levadura Biosaf en dietas extruidas.	38
11	Células totales en dietas lixiviadas (1 y 2 horas) a diferentes salinidades (5, 35 y 65 ppt).	39
12	Células viables en dietas lixiviadas (1 y 2 horas) a diferentes salinidades (5, 35 y 65 ppt).	39
13	Células totales y viables durante las diferentes etapas del proceso de elaboración de las dietas con levadura Biosaf.	40
14	Perdida en materia seca por lixiviación durante 1 y 2 horas en diferentes tipos de salinidades.	42
15	Análisis proximal de las dietas con la levadura Biosaf (<i>S. cerevisiae</i>) seca activa aglomerada, fina y gruesa (%).	51
16	Sobrevivencia y Tasas de Conversión Alimenticia y Crecimiento de los camarones alimentados con las dietas peletizadas (28 días de bioensayo).	53
17	Cantidad de bacterias totales que presentaron los camarones al inicio del bioensayo.	55
18	Cantidad de levaduras totales que presentaron los camarones al inicio del bioensayo	55
19	Cantidad de colonias de bacterias heterotrofas totales por gramo de intestino de los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo	56
20	Número de colonias de levadura por gramo de intestino de los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.	56

21	Cambios en la cantidad de bacterias heterotrofas totales por gramo de intestino en los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.	57
22	Cambios en la cantidad de levaduras por gramo de intestino en los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.	57
23	Distribución en pesos (g) en un estanque de cultivo de camarón . .	59
24	Efecto de la velocidad de agitación (RPM) sobre el coeficiente de rendimiento celular (Yx/s) de <i>S. exiguus</i>	71
25	Efecto de la cantidad de aire (VVM) sobre el coeficiente de rendimiento celular (Yx/s) de <i>S. exiguus</i>	71
26	Variaciones del pH durante la fermentación de <i>S. exiguus</i>	72
27	Vista superior de la sala de bioensayo.	73
28	Estructura de los tanques de experimentación.	73
29	Sistema de recirculación del agua en la sala de bioensayos.	74



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Dietas experimentales fabricadas con Levina y <i>S. exiguus</i>	16
2	Análisis proximal de los ingredientes en base húmeda (%).	23
3	Análisis proximal de las dietas en base seca (%).	23
4	Composición de las dietas experimentales.	24
5	Viabilidad de la levadura <i>S. exiguus</i> al ser extruida con el alimento (Cél./g)	25
6	Perdida de materia seca de las dietas en diferentes tipos de agua (%).	25
7	Resultados del Bioensayo de uso de diferentes levaduras como fuente de proteína para la alimentación de camarón blanco <i>P. vannamei</i>	26
8	Costos de las dietas.	27
9	Dietas peletizadas fabricadas con Biosaf fina o gruesa..	32
10	Dietas extruidas fabricadas con Biosaf fina, media o gruesa..	32
11	Número teórico de levadura en las dietas..	35
12	Viabilidad de Biosaf en dietas almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración.	40
13	Inactivación de la levadura Biosaf en las dietas peletizadas.	41
14	Inactivación de la levadura Biosaf en las dietas extruidas.	41
15	Lixiviación de las dietas con levadura Biosaf en diferentes tipos de agua (%).	42
16	Composición de las dietas experimentales con levadura Biosaf como probiótico (%).	47
17	Análisis proximal de las dietas peletizadas y sus ingredientes (%)...	52
18	Resultados del uso de la levadura Biosaf como probiótico, para la alimentación de camarón blanco <i>P. vannamei</i> (promedios \pm EE).	52
19	Análisis microbiológicos de las dietas durante el bioensayo.	54
20	Composición del Líquido de Remojo de Maíz.	70
21	Viabilidad de las levadura BIOSAF en dietas peletizadas	75
22	Viabilidad de la levadura BIOSAF en las premezclas de las dietas extruidas.	75
23	Viabilidad de las levadura BIOSAF en dietas extruidas.	75
24	Lixiviación de las dietas peletizadas con levadura BIOSAF fina.	76

INTRODUCCION

El cultivo de camarón es una gran alternativa de producción en México. En 1989 las reformas a la Ley Federal de Pesca favorecen esta actividad y establecen que se cuenta con 335,000 ha de lagunas costeras y estuarios y con las especies nativas adecuadas (*P. vannamei*, *P. stylirostris* y *P. californiensis*) para su desarrollo. Actualmente, el cultivo y comercialización del camarón han tomado un enorme auge en nuestro país, es indispensable encontrar los medios para que esta actividad resulte redituable, es decir que los costos de mantenimiento, alimentación, procesado, etc. dejen márgenes de utilidad razonables. El alimento es uno de los costos principales y constituye hasta un 60% del costo de producción, por lo tanto es en esta sección donde pueden llevarse a cabo los mayores ahorros para la acuicultura; por lo anterior, las diferentes estrategias a seguir para lograr estas mejoras consisten en: crear dietas más asimilables para el camarón, encontrar subproductos de menor precio, con mayor calidad y/o cantidad de proteína y que puedan substituir total o parcialmente a la tradicional harina de pescado.

La levadura es un producto ideal para usarse en acuicultura, es un subproducto que se obtiene de cervecías y otros procesos; es una buena fuente de aminoácidos esenciales como lisina y sus proteínas poseen buena digestibilidad; sin embargo todavía es un subproducto de alto costo, la calidad y cantidad de su proteína y aminoácidos dependen de la cepa y la forma de cultivo repercute en la digestibilidad. Es importante determinar si se puede utilizar como sustituto de la harina de pescado en alimentos comerciales para camarón y si es económicamente rentable.

En los últimos años se ha manejado la idea de utilizar microorganismos vivos en alimentación, esto mejora el crecimiento y disminuye la tasa de conversión alimenticia, pero no se conoce totalmente el modo de acción de los microorganismos. Se ha sugerido que compiten por espacio en el tracto intestinal y esto disminuye los efectos de las bacterias no benéficas; también se sugiere que el microorganismo produce enzimas y que bajan el pH intestinal, lo que mejora la asimilación de los nutrientes. Estos productos han sido empleados en alimentación terrestre y su uso a sido limitado en la acuicultura, por lo anterior es importante determinar si se pueden emplear en formulaciones de alimentos para camarón y tratar de descifrar su modo de acción en el camarón así como investigar si puede mejorar la tasa de conversión alimenticia.

HIPOTESIS

Suponemos que las levaduras pueden mejorar el crecimiento y la tasa de conversión alimenticia del camarón blanco *P. vannamei*; al ser usada en alimentos balanceados como materia prima fuente de proteína o factor de crecimiento de tipo probiótico.

OBJETIVOS GENERALES

- 1 Determinar el valor nutricional de las levaduras *S. cerevisiae* y *S. exiguus* como fuentes de proteína en un alimento compuesto para camarón.
- 2 Cuantificar la inactivación de la levadura activa aglomerada (Biosaf) durante la peletización y la extrusión húmeda, determinando además la inactivación que sufre la levadura, durante el almacenamiento del pellet, en un ambiente caliente y húmedo, y con la lixiviación del mismo en agua marina.
- 3 Conocer el posible efecto promotor del crecimiento de la levadura seca activa aglomerada *S. cerevisiae* en dietas para camarón y contribuir a precisar su modo de acción.
- 4 Demostrar si es rentable el uso de levaduras como fuente de proteína y/o probiótico en la formulación de alimentos para camarón.

ANTECEDENTES

Actualmente el cultivo de camarón es un área de desarrollo con prioridad nacional (SEPESCA, 1987). Las nuevas reformas establecidas por la Secretaría de Pesca, permiten al sector privado invertir en el cultivo de camarón (Diario Oficial, 1989). En este contexto se puede prever la necesidad de alimentos eficientes y de bajo costo, sobre todo si el alimento puede constituir hasta el 60% de los costos de producción de una explotación camaronícola semiintensiva ó intensiva.

PRODUCCION DE CAMARON

El volumen de camarón silvestre capturado en 1987, a lo largo de toda la zona económica exclusiva mexicana, se encontraba entre los 70 a 75 mil toneladas anuales (Polanco *et al.*, 1987), sin embargo, pese al aumento en unidades de esfuerzo pesquero, existe actualmente una tendencia estable en la captura, lo que significa que está pesquería ha llegado a su límite biológico. Así, después de que México ocupara el primer lugar como abastecedor de camarón al mercado Nortamericano, Ecuador nos desplaza, en 1988, a segundo plano y en 1989 poseemos el tercer lugar, debido principalmente a la entrada del camarón de acuacultura de la República Popular China, al mercado mundial (Rosenberry, 1989).

En el caso particular de la camaronicultura, la República Popular China posee, actualmente, el segundo lugar como productor de camarón a nivel mundial, el área total utilizada para la producción se incrementó de 16,000 ha en 1986 a 150,000 ha en 1992, y el nivel de cosecha, se incrementó de 7,000 ton en 1982 a 140,000 ton en 1992. La República Popular China es tan solo superado por Tailandia, quien produce 150,000 ton con solo 60,000 ha de producción (Rosenberry, 1989, 1990, 1992a y 1992b).

Ecuador, a sus 21 años de desarrollo en la acuacultura, es el principal productor de camarón cultivado en América, cuenta con 120,000 ha alcanzando en 1992 una producción camaronera de 95,000 ton. México, por su parte, cuenta con 5,000 ha y en 1992 a logrado una producción de 8,000 ton (Rosenberry, 1992a).

Para países camaronicultores como Tailandia, China, Ecuador, México etc, la situación futura favorecerá a los que produzcan camarón bajo sistemas de cultivo semiintensivos a escala intermedia (2,000 kg/ha) y que operen a más bajo costo. Tanto el desarrollo tecnológico como la competencia internacional, han propiciado un crecimiento de la acuacultura en países que hasta hace cinco años no figuraban en el ámbito mundial y que hoy sobrepasan a los productores tradicionales como Ecuador, México etc. (Rosenberry, 1992b).

En México, las modificaciones a la Ley Federal de Pesca buscan revertir esta tendencia, como consecuencia estas reformas proponen a la acuacultura mexicana como abierta a los particulares en general y no restringida únicamente

a las cooperativas y ejidos. Estas condiciones suponen una directa y más amplia participación de personas físicas y morales de nacionalidad mexicana en el cultivo abulón, langosta, almeja pismo, camarón, ostión, totoaba y tortugas marinas, manteniéndose la reserva solo en lo tocante a su captura en el medio natural (Diario Oficial, 1989).

USO DE LEVADURAS COMO FUENTE DE PROTEINA

Al tomar en cuenta la alimentación del camarón como factor primordial durante su cultivo, es indispensable encontrar los medios para obtener un alimento eficiente, de calidad excelente, y que estimule un rápido crecimiento, lo que disminuye los costos de producción. Se puede lograr un crecimiento importante en la acuicultura si se obtienen dietas bien balanceadas, de buena calidad y que cubran los requerimientos nutricionales de la especie cultivada. La eficiencia de un alimento balanceado depende mucho del valor nutricional de sus ingredientes y principalmente de las fuentes proteicas que poseen tales como, harina de pescado, camarón, pasta de soya, levadura etc. (Espinoza, 1992).

El uso de la levadura en la alimentación no es reciente, en los albores de la civilización se utilizaba ya como ingrediente en la elaboración del pan. Estos microorganismos están muy difundidos en la naturaleza, se encuentran en las frutas, los granos y otras materias nutritivas que contienen azúcares, en el suelo (especialmente en los viñedos y en los huertos), en el aire, en la piel, en el intestino de los animales y en algunos insectos (Espinoza, 1992).

Actualmente las levaduras son usadas en diversos procesos industriales obteniéndose de éstos productos tales como: enzimas, coenzimas, saborizantes, cerveza, vinos, pulque, bebidas destiladas, productos farmacéuticos (riboflavina), y como alimento para consumo humano y animal.

EN LA ACUACULTURA

Durante los últimos años, algunos organismos unicelulares han llamado la atención de los investigadores en cuanto a la posibilidad de usarlos en la alimentación de especies acuícolas cultivadas. Diversos tipos de levaduras (*Candida lipolytica*, *Torula*, *S. cerevisiae* y *Hansenula anomala*), distintas algas unicelulares (*Chaetoceros sp* y *Tetraselmis sp*) y algunas bacterias (*Lactobacillus sp*) han sido los protagonistas principales de una serie de estudios encaminados a comprobar su papel nutritivo y la posibilidad de incluirlos en las dietas de peces como una fuente proteica efectiva capaz de disminuir el uso de harina de pescado, aunque sin tratar de sustituirla por completo.

La elección de estos microorganismos se debe a diversas ventajas, entre las cuales Kihlberg (1972) destaca las siguientes:

1. Pueden crecer sobre sustratos de bajo costo o sobre productos de deshecho agroindustriales.
2. En muchos casos, los propios organismos se obtienen como subproductos de algunos procesos industriales.
3. El contenido proteico suele ser muy elevado (entre el 40 y 70% de proteína de la materia seca).
4. Su alta velocidad de reproducción, junto con el hecho de que hacen que se puedan cultivar de forma continua, en pequeños espacios y con relativa independencia de clima, confiere a muchos de sus cultivos una alta productividad y rentabilidad.
5. Por último, las nuevas técnicas de manipulación genética podrían mejorar, en cierta medida, sus características nutritivas.

De todas las fuentes proteicas unicelulares, las levaduras han sido empleadas para la mayor parte de los estudios realizados con este tipo de proteínas. Las más frecuentemente usadas en dietas para peces son las levaduras cultivadas sobre hidrocarburos (*C. lipolytica*, etc.), sobre etanol sintético (*H. anomala*, etc) y levaduras de cerveza en especial *S. cerevisiae*, (New, 1987).

Sin embargo, la proteína presente constituye el 40 a 60% del peso seco en la levadura, suele ser deficiente en aminoácidos azufrados; si bien es rica en lisina, este último hecho bastaría por sí solo, para hacerla una fuente proteica sumamente atractiva, desde el punto de vista de su uso en formulaciones, como complemento de otras fuentes proteicas, debido que la lisina es un aminoácido limitante en muchas de ellas (Nose, 1975; Varela *et al.*, 1976; Atask y Matty, 1979 y Appelbaum, 1979).

Por otra parte si se compara con otras materias primas proteicas de origen animal o vegetal, el contenido de nitrógeno no aminoacídico es alto; este proviene fundamentalmente de ácidos nucleicos (ARN especialmente) y nucleótidos (Atack y Matty, 1979 y Rose 1979) y puede contar desde un 5 al 12% de su peso en materia seca, por lo tanto no debe ser considerado en el cálculo de contenido proteico de las levaduras ($N \times 6.25$) ni en el cálculo de los índices de utilización proteica (Kihlberg, 1972; Crueger y Crueger, 1984).

Se ha indicado que los ácidos nucleicos, incorporados a altos niveles, en las dietas para peces, ejercen diversos efectos perjudiciales, que incluyen, p. ej. en la trucha, desde alteraciones metabólicas, cambios en la actividad de enzimas hepáticas, acumulación de ácido úrico y urea etc. hasta anemias microcíticas y anomalías eritrocitarias de distinto tipo (Sánchez y Muñiz *et al.* 1979, 1982, 1983; Tacon y Cooke, 1980). Así mismo se ha sugerido que el nitrógeno proveniente de estos compuestos no es útil para organismos monogástricos incluyendo peces y crustáceos (Tacon y Cooke, 1980; Tacon y Jackson, 1985).

Los coeficientes de digestibilidad aparentes de la proteína de diferentes tipos de levaduras, han mostrado ser buenos: alrededor de 90% para las levaduras de petróleo, en especies tan distintas como la trucha, la carpa y la platija. La levadura de cerveza, sin embargo muestra en la trucha una

digestibilidad algo menor (80%), recientemente se ha demostrado que puede llegar a ser hasta un 64% cuando se alimentan alevines de trucha arcoiris con una mezcla de levaduras (Kanazawa, 1981).

Se concluye que las levaduras se han utilizado en numerosas investigaciones como única fuente de proteína en las dietas de diversos peces y pese a la deficiencia en aminoácidos esenciales y alto contenido en ácidos nucleicos, se ha comprobado que algunas levaduras pueden ser usadas para sustituir, al menos parcialmente, a la harina de pescado en las dietas para peces, siempre que su precio y/o disponibilidad en el mercado lo permita.

EN ALIMENTOS PARA ENGORDA DE CAMARON

Las levaduras se han usado como una fuente de proteína substituta de la harina de camarón; Balazs et al (1973) prepararon una excelente dieta para *P. japonicus* con 45% de harina de camarón y 5% de levadura de cerveza, Deshimaru y Kuroki (1974) usaron una dieta control que contenía 18.4% de levadura (*S. cerevisiae*) y 13.8% de harina de camarón. Para *P. aztecus*, Sick et al (1972) comparan el valor nutricional de varios ingredientes incorporados a una dieta purificada a base de caseína no hidrolizada, ellos determinaron un incremento en biomasa de 39% con un hidrolizado de caseína, levadura y soya, y uno de 18 a 19% al usar los ingredientes por separado. En *P. stylirostris*; Fenucci et al (1981) al tratar de encontrar un sustituto para la harina de camarón, probaron diferentes dietas con harina de calamar y levadura de cerveza (*S. cerevisiae*), ellos concluyeron que la harina de camarón puede ser sustituida hasta en un 50% por levadura, si la dieta contiene además un 5% de harina de calamar, sin que esto, disminuya el crecimiento.

Los tipos o especies de levaduras utilizadas son muy variables, Deshimaru y Shigueno (1972) encontraron que la levadura cultivada en petróleo, con 60% de proteína cruda, y una levadura marina, con 25% de proteína cruda, son fuentes de proteína básica. Deshimaru (1981) usó la levadura *Candida sp.* en dietas experimentales para camarón. El IFREMER utiliza indistintamente las levaduras lácticas, de cervecería y de panadería en dietas para *P. vannamei*, *P. stylirostris*, *P. monodon* y *P. indicus*. En un estudio de simplificación de un alimento hecho para *P. monodon* (Cruz, 1985; no publicado), se agregó un 6% de bacterias láctica a la dieta, la cual tenía como fuente de proteína un concentrado de pescado y harina de camarón. Se logro un incremento significativo en la tasa de crecimiento, comprobándose el efecto positivo de la levadura como fuente de proteína. New (1987) presenta a las levaduras *Torula*, *Torulopsis utilis* y *S. cerevisiae* como fuentes de proteína con la metionina y la cisteína como sus aminoácidos limitantes, además, señala a las levaduras como una fuente interesante de vitaminas del grupo B.

Tacon (1987) menciona que las fuentes de proteína unicelular son pobres en lípidos y calcio, sin embargo son una excelente fuente de vitaminas (Vit. B, inositol y colina) y de fósforo. Además presenta una tabla de composición química

para las diferentes especies de levaduras usadas en nutrición y señala el uso de una levadura marina como fuente de carotenoides en dietas de camarón y salmónidos.

Las opiniones sobre la digestibilidad de la levaduras son contradictorias: Forrelat *et al* (1988) determinaron la digestibilidad *in vitro* de 8 fuentes proteicas, de las cuales, la levadura *Torula* y una mezcla de *Celulomonas sp.* y *S. cerevisiae* presentaron valores de 32.66 y 43.90% respectivamente, comparadas con valores de 61 a 68% para harinas de pescado, calamar, cabeza de camarón, de 83.2% para el afrechillo de trigo y de 85.8% para harinas de soya y girasol. Los aminoácidos esenciales limitantes para la levadura *Torula*, en comparación con tres proteínas de peneidos, son la leucina, la metionina y la cisteína.

Kong Jung (1988) propone el uso de levadura al 2% (no menciona especie) por su efecto en la digestibilidad de los nutrientes del alimento, el señala la composición de su levadura (humedad 14.23%, proteína cruda 42.25%, grasa 1.10%, ceniza 10.24% y otros 32.18%) y presenta la tasa de digestión por diferentes especies de camarón: 86.75, 84.62, 83.59 y 85.28% respectivamente para *P. monodon*, *P. japonicus*, *P. semisulcatus* y *P. monoceros*. La levadura fue el ingrediente de mayor digestibilidad junto con la harina de pescado.

Ciertas compañías promueven y comercializan levaduras como fuente de proteína para acuicultura, p ej. en EU: Provesteen T de Phillips-Provesta Corporation. Los argumentos de venta son los siguientes: alto contenido de proteína (50%), alta digestibilidad y disponibilidad de la proteína, distribución de aminoácidos bien balanceada, buenos resultados, en crecimiento y sobrevivencia, como fuente de proteínas para *P. stylirostris* en remplazamiento de harinas de pescado, camarón y soya. Esta compañía propone también un proceso de fabricación adaptable a substratos como caña de azúcar, betabel, sorgo, plátano, papa dulce y maíz. La limitación actual de este tipo de producto es el precio. Mientras no disminuya su precio hasta 50 centavos de dólar por Kg de levadura, su uso en alimentos comerciales será limitado (Lawrence, Com. Pers. 11 Oct. 1990).

Akiyama y Dominy (1989) describen a las levaduras como ingrediente adecuado para la industria del alimento comercial de camarón; son proteínas de organismos unicelulares que son subproductos de la industria de panificación, cervecería y destiladeras; son una fuente de vitaminas y están asociadas a factores de crecimiento desconocidos. Una ventaja de la levadura puede ser que hay menos destrucción y lavado de vitaminas y de los factores de crecimiento desconocidos, por estar encapsulados. Su uso esta limitado por la palatabilidad (sabor amargo) del alimento, sin embargo, varios medios de cultivo y métodos de procesamiento pueden producir productos palatables. Akiyama y Dominy indican que el nivel de incorporación de la levadura en alimento comercial está entre el 2 y 5%, el nivel no deberá exceder del 5%, a menos que la levadura usada sea palatable para el camarón.

Se ha visto la necesidad de utilizar concentraciones alta de levadura en las dietas, a razón de un 10, 20 y 30%, en substitución de la harina de pescado, para que éstas concentraciones representen un porcentaje substancial de la proteína

total en las dietas y puedan generar una diferencia significativa si se compare con el crecimiento obtenido de una dieta en base a harina de pescado (Espinoza, 1992).

Los estudios del uso de las levaduras en dietas para camarón son contradictorios, sin embargo, podemos mencionar que las levaduras son una fuente excelente de proteína, vitaminas y factores de crecimiento desconocidos, justificando su uso en alimentos comerciales, considerando siempre la digestibilidad de la proteína y la palatabilidad del alimento.

PARA LARVAS DE CAMARON

En la búsqueda de nuevas alternativas para substituir del alimento vivo que se usa en la nutrición de larvas de camarón, las levaduras son una buena opción, en lugar de las micropartículas, que son de alto precio.

Colvin y Brand (1977) realizaron un experimento con postlarvas de *P. californiensis*, ellos trataron de substituir a la *Artemia*, el alimento vivo tradicionalmente usado, por un pellet compuesto de harina de soya, otras harinas y dos tipos de levaduras, una procedente de n-parafinas (Toprina G) y otra de cerveza (Yeaco 20). Una vez obtenida la correspondiente mezcla de harinas y demás componentes, entre ellos alginatos, se procedió a su molienda y posterior tamizado (de 60-80 y 48-60 mallas), lo que corresponde a una separación de partículas de 295-246 μ m y 246-175 μ m respectivamente. La mejor sobrevivencia y tasa de crecimiento se obtenían al usar los pellets con levaduras, mientras que los valores disminuían al usar los que estaban desprovistos de ellas e incluso cuando las postlarvas eran alimentadas con *Artemia* (muestra testigo). De las dos levaduras, la Toprina G daba los mejores resultados, lo que pone de manifiesto la riqueza en principios esenciales de las levaduras.

Gelabert et al (1988) utilizaron dos especies de levaduras *Torula* como alimento suplementario en la nutrición de larvas de *P. schmitti*, ellos lograron, al combinar *C. ceratosporum* y *T. tetrahele*, valores de sobrevivencia, en el estadio larvario mysis III, de 94.5% al usar *Torula* 1 y de 91.4% al usar *Torula* 2.

Kanazawa et al (1978) menciona que la levadura también se usa como alimento en el cultivo de animales presa (*Brachionus plicatilis*, *Artemia* y *Moina*), que sirven como alimento a las larvas de camarón o peces, con el objeto de aumentarles el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (ω 3).

Watanabe et al (1982), utilizaron levadura de panadería enriquecida o cultivada en presencia de una emulsión de aceite de hígado de pescado con yema de huevo, en agua de mar, para alimentar larvas de camarón.

Los resultados presentes señalan que las levaduras y sobre todo la levaduras enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados pueden funcionar como un complemento alimenticio para las larvas de peces y camarón, sin llegar a substituir totalmente a la *Artemia*.

PROBIOTICOS

La palabra Probiótico fue acuñada en E.U.A en 1974 por Parker, deriva de dos vocablos griegos que significan para la vida y contrasta enormemente con una palabra mucho más conocida que es antibiótico, la cual significa contra la vida. De acuerdo con la definición original de Parker, probiótico son microorganismos o sustancias provenientes de microorganismos que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal. Esta definición incluye cultivos, células y metabolitos microbianos. Sin embargo, la definición nunca pretendió ser tan amplia y únicamente incluye cultivos microbianos y/o productos directos del cultivo microbiano (Hoyos, 1990a).

Se podrían mencionar todo tipo de referencias bibliográficas que datan desde 1924 y más recientemente toda una gama de publicaciones que nos explicarían y pondrían en evidencia todo lo que respecto al concepto de probióticos se ha estudiado (Dale, 1992 y Fox, 1993). Sin embargo, cuáles han sido las condiciones que imperan para que un probiótico sea utilizado eficientemente en nutrición animal? En forma resumida los mecanismos de acción que se han sugerido para los probióticos son los siguientes para:

BACTERIAS ACIDIFICANTES (Lactobacilos y Estreptococos)

1. Cambio en la flora bacteriana y reducción de microorganismos patógenos (*E. coli*).
2. Producción de ácido láctico, que reduce el pH en el sistema digestivo del animal.
3. Adhesión y/o colonización por los microorganismos seleccionados a nivel de sistema digestivo del animal.
4. Previenen la proliferación de microorganismos que producen toxinas que afectan al sistema digestivo del animal.
5. Producción de antibióticos.

LEVADURAS

1. Fuente de nutrientes indispensables: aminoácidos, vitaminas, oligoelementos.
2. Optimización en el proceso de absorción de minerales, especialmente de zinc, potasio y cobre.
3. Propiedades absorbentes, lo que las convierte en fuente de nutrientes, y además actúa como amortiguador de pH.
4. Propician condiciones de una mayor anaerobiosis, lo que estimula el desarrollo de microorganismos anaerobios estrictos.
5. Paralelamente, las levaduras actúan como saborizantes naturales, lo que incrementa el consumo por parte del animal.

EN ADITIVOS PARA LA ALIMENTACION PECUARIA

Hoyos (1990a) da un alimento complementado con bacterias lácticas (LACTO-SACC de Apligen) a vacas lecheras de alto y bajo rendimiento, durante un período de 30 días. Determinó que esta alimentación mejora en un 6% la producción lechera de las vacas de alto rendimiento, sin alterar la producción de las vacas de bajo, el contenido de grasa se ve mejorado un 19.4% y 13.97% respectivamente. Sin embargo no marca las causas del porque la alimentación con probióticos mejora la producción.

Hoyos (1990b) utiliza *L. acidophilus* como complemento alimenticio para cerdos recién destetados y determinó; que la utilización de este probióticos mejora el crecimiento del organismo. Este aumento en el crecimiento lo atribuye a la fijación de la cepa al tracto digestivo del animal, lo que inhibe el desarrollo y proliferación de bacterias patógenas en los siguientes rangos:

	% de inhibición
<i>E. coli</i>	80
<i>Salmonella sp</i>	45
<i>Shigella sp</i>	50
<i>Pseudomonas sp</i>	50
<i>Clostridium perfringens</i>	100

También atribuye, a las bacterias ácido lácticas, está mejora en el crecimiento por mantener los niveles de pH necesarios para un ambiente intestinal saludable tanto en la regulación de la flora benéfica como en la optimización de la actividad enzimática.

Hoyos (1990c) utiliza una dieta complementada de péptidos más probióticos, que mejoran la sobrevivencia y crecimiento de lechones al disminuir las diarreas y trastornos digestivos que se producen durante el destete; atribuye está mejora a la fijación temprana de bacterias benéficas que disminuyen el desarrollo de bacterias patógenas.

La Compañía Apligen de México, filiar de Alltech, Inc. utilizó uno de sus probióticos (LACTO-SACC) al 0.1%, en la alimentación de aves de engorda. Determinaron, en un período de 56 días, un aumento de peso significativo y una disminución del 2% en la tasa de conversión alimenticia, con respecto a la dieta control. Se considera que la mejora de peso se debe a la manipulación y colonización rápida del epitelio del buche e intestinal con bacterias lácticas, aumento en la producción de ácido láctico, lo que mantiene un pH ácido, y al aporte de enzimas digestivas (amilasas, proteasas, celulasas etc.) y ácidos orgánicos (ácido cítrico, citrato de sodio etc.).

USOS EN ACUACULTURA

Gatesoupe (1991a) utiliza bacterias lácticas como probióticos en alimentos para producción de rotíferos usados a su vez como animales presa en la alimentación de larvas de un pez plano (*Scophtalmus maximus*). El determinó una mejoría en el valor nutricional del rotífero, ya que mejoró el crecimiento de las larvas de pez.

Gatesoupe (1991b, c, d) presenta a los probióticos como una alternativa para eliminar los riesgos de proliferación de Vibrios oportunistas y mejorar la tasa de sobrevivencia y de crecimiento de las larvas de peces (*S. maximus*). El define a los probióticos como una preparación de gérmenes viables, generalmente bacterias lácticas o esporas de bacilos, que no son capaces de desarrollarse en los medios de cultivo y deben aportarse de forma continua, en el medio de producción de rotíferos (*B. plicatilis*). Los beneficios que han sido observados son: mejora la tasa de producción de rotíferos y evita la proliferación de Vibrios dominantes, lo que permite el desarrollo de una flora más diversa. Los probióticos usados mejoraron el peso de los peces y las esporas de bacilo mejoran la tasa de sobrevivencia de las larvas de peces, en el caso de infección experimental o accidental con Vibrios oportunistas. Todos estos efectos pueden ser debido a sustancias antibióticas provenientes de los probióticos.

En el Departamento de Microbiología General y Marina de la Universidad de Göteborg en Suecia, se realizan estudios sobre el efecto de la administración de probióticos en la microflora gastrointestinal, sus mecanismos de fijación e inhibición, el aporte nutricional y enzimático etc. de *S. maximus*. (Conway et al, 1991).

Actualmente las levaduras son escasamente consideradas como probiótico para dietas de camarón y en aquellos trabajos donde se mencionan, nunca se ha descrito si las levaduras utilizadas eran activa o inactivas. Al realizar estos estudios en el tracto intestinal de los camarones de debe incluir únicamente el tracto intestinal, sin el hepatopáncreas, para evitar con esto la lisis de los microorganismos presentes por el efecto de las enzimas contenidas en hepatopáncreas (Espinoza, 1992)

SOBREVIVENCIA DE LA LEVADURA AL PROCESO.

De los trabajos científicos consultados sobre uso de levadura en alimentos balanceados, ninguno trata de la resistencia de la levadura viva al proceso de peletizado. Solo se encontró un reporte que menciona pruebas de resistencia de la levadura al peletizado (Lewis, 1990). En realidad se trata de una investigación realizada en laboratorio, en donde la levadura es sometida a variaciones de temperatura, presión y humedad dentro de tubos de pared delgada colocados dentro de un baño maría.

En este trabajo, se demostró la tolerancia de *S. cerevisiae* pura (Yea-Sacc MR. 2 x 10⁹ UFC/g) a temperaturas de 75 y 85°C por 8 min, su sobrevivencia disminuye progresivamente hasta 0.1% (10⁵ UFC/g) en 8 min. a 95°C (ver figura

1).

Si la levadura pura es almacenada a una temperatura de 30°C por 6 meses, la sobrevivencia es del 1% y se mantiene a este nivel (10^7 UFC/g) aunque se le someta a 85°C por 8 min. Si se almacena a 2 o 18°C, la sobrevivencia es mejor (50% Aprox.), pero baja a un 1% en 4 y 8 min respectivamente, durante la prueba a 85°C, obteniendo a final de cuenta un resultado similar.

Lewis, 1990 trata a la levadura seca a altos niveles de humedad ambiental y a una temperatura de 85°C. A 7% de humedad (condición del producto original), la sobrevivencia es de 100% durante a los 8 min, mientras que a 32% la sobrevivencia baja a 0.1% (10^6 UFC/g) en solo 2 min y se mantiene en 200,000 UFC/g en los minutos siguientes. El menciona un posible efecto protector de las células muertas y al extrapolar al medio ambiente de un pellet comprimido, el contempla una estabilidad mayor en la peletización que en las pruebas en tubo.

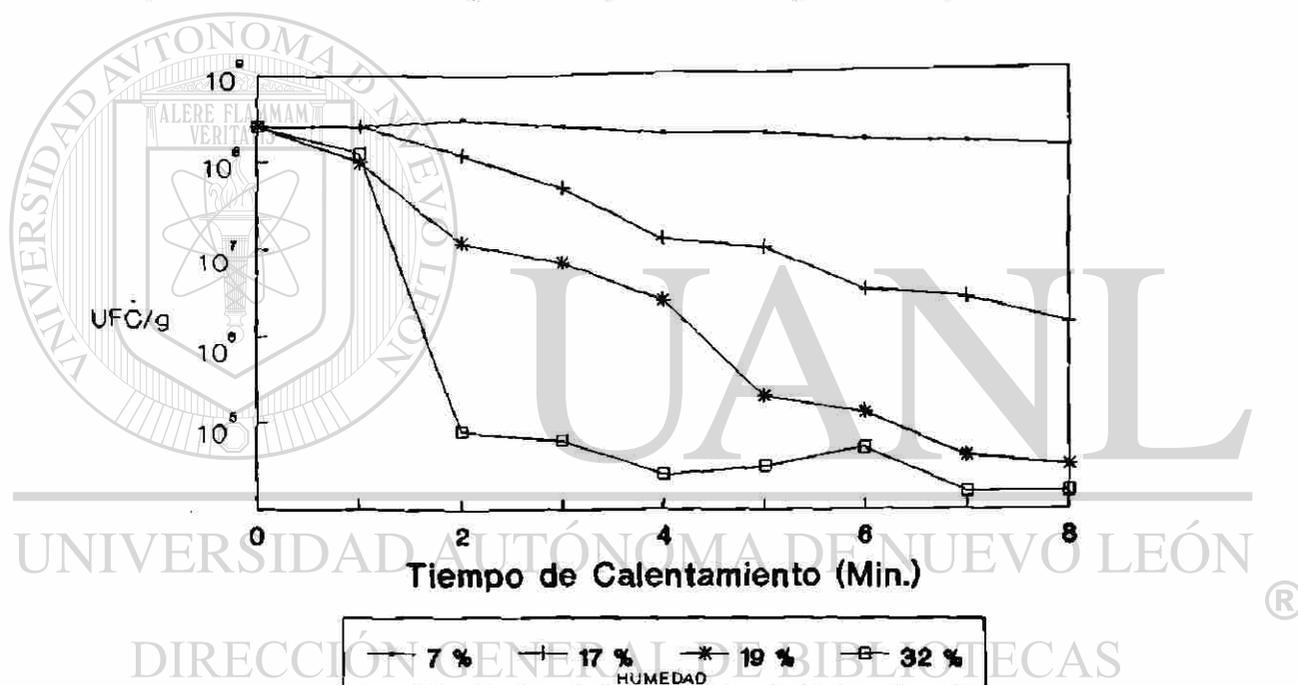


Figura 1. Sobrevivencia de *S. cerevisiae* pura (Yea-Sacc) a 85°C, durante diferentes intervalos de tiempo, en muestra con diferente contenido de humedad.

Ricque *et al.*, 1990; Roques y Dussert, 1991 y Espinoza, 1992 realizaron estudios con *S. cerevisiae* (Procreatin-7 de SAFMEX) en donde compararon el crecimiento de *P. vannamei* alimentados con dietas al 0.5 y 1% de Procreatin-7. De acuerdo con los resultados de viabilidad de la levadura pura y su porcentaje de incorporación en la dieta, se esperaba un resultado teórico de 6.5×10^7 y 13×10^7 Cél/g respectivamente en la dietas terminadas. Sin embargo, los resultados fueron de 8×10^5 Cél/g para Procreatin al 1% y 1.5×10^4 para Procreatin al 0.5%, con una sobrevivencia de 0.62% y 0.02% respectivamente (factor de inactivación

162.5 y 4,333.0), estos valores son los mismo que fueron obtenidos por Lewis (1990) a 32% de humedad. Aunque lograron un aumento en las tasas de crecimiento de entre 2 y 6% con la incorporación de 0.5 y 1% de Procreatin-7 y mejoras en las tasas de conversión alimenticia de 11.5 y 10.5% respectivamente, ellos concluyen que la cantidad de levadura activa en los alimentos no fue la suficiente para lograr un efecto significativo en el crecimiento y recomiendan el uso de una presentación más resistente al proceso de peletizado.

La compañía Diamond V de E.U.A, recomienda el uso de la levadura en alimentos para trucha, bagre, angila y camarón, en un nivel de 0.5 y 1% en la dieta, ya que provee de metabolitos y otros factores desconocidos que favorecen el crecimiento. Al someter su levadura y el de otras compañías al proceso de peletizado, ellos indican que aun las encapsuladas o protegidas, mueren a causa del peletizado o presentan una desactivación del 86 al 99.9%, sin embargo, los metabolitos no sufren variaciones y son estos, los que mejoran el crecimiento de los animales. Al estudiar el comportamiento de la levadura en condiciones de anaquel, se determinó que almacenada a 0°C permanece sin variaciones, que la almacenada a 16°C no varía en las primeras 4 semanas, se desactivaba un 40% a la semana 8 y un 95% a la semana 20. La levadura a 35°C se desactivada un 99% en las primeras 8 semanas; lo que determina, que la temperatura es un factor crítico para la viabilidad de la levadura.

MICROORGANISMOS EN EL TRACTO INTESTINAL DE CRUSTACEOS

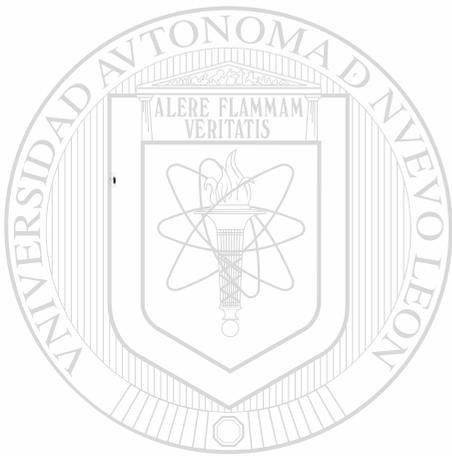
Dall y Moriarty (1983) encuentran microorganismos, especialmente diferentes bacterias, en el tracto digestivo de la mayoría de los crustáceos. Estos son ingeridos por los animales y representan una fuente importante de su alimento. Ellos detectan que la biomasa bacteriana de *Metapenaeus benettae* constituye más del 30% del carbón orgánico ingerido y que los crustáceos poseen glucanasas, lo que hace pensar que son capaces de lisar y digerir levaduras.

Hood y Meyers (1973) determinan que muchos crustáceos tienen diversos microorganismos específicamente adaptados a vivir en el tracto digestivo.

Yasuda y Kitao (1980) detectan en *P. japonicus*, que el número de bacterias presentes en el tubo digestivo varía de 2×10^3 a 1.8×10^5 , con un número máximo durante el estadio larvario Zoea, consumidor de bacterias y microalgas. Durante este estadio el grupo *Vibrio*, domina tanto al tubo digestivo de las larvas como en el agua del cultivo. En los estadios larvarios siguientes, en juveniles y adultos, *Pseudomonas sp* son dominantes tanto en los camarones cultivados o silvestres como en el sedimento, sin embargo, el genero dominante en el agua es *Vibrio*. La presencia de *Aeromonas* y *Vibrio* dominantes se traduce entonces en un crecimiento retardado.

Dall y Moriarty (1983) señalan la poca evidencia que existe sobre un beneficio para el animal, por tener una flora bacteriana adaptada a su intestino. Parece poco probable que la flora sea una importante fuente de enzimas

digestivas, sobre todo, por los polisacáridos que no pueden ser digeridos por el mismo animal. El alimento pasa muy poco tiempo en el tracto digestivo (tan solo unas horas) y no hay tiempo suficiente para que la fermentación bacteriana, contribuya substancialmente a la digestión de carbohidratos. Sin embargo, se ha detectado que una posible función de la actividad microbiana en el tracto digestivo es el suministro de vitaminas y aminoácidos esenciales.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

I.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO FUENTE DE PROTEINA

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar la composición química de productos comerciales y experimentales utilizados para formular diferentes dietas con levaduras *S. cerevisiae* y *S. exiguus* respectivamente.

Comparar el crecimiento, sobrevivencia y conversión alimenticia obtenidos en camarones alimentados con dietas que poseen niveles crecientes de *S. cerevisiae* o *S. exiguus*.

MATERIAL Y METODO

AREAS DE TRABAJO

Este trabajo fue realizado en la FCB-UANL en las siguientes áreas: Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo "Dr. H.T. Dulmage", para la obtención de la biomasa de levadura y análisis microbiológicos, Laboratorio de Alimentos, para la fabricación de las dietas y el análisis proximal, y en el Laboratorio de Maricultura, para el bioensayo con camarón.

DIETAS

Se preparó una dieta control y cuatro experimentales con *S. cerevisiae* (Levina, M.R.) y *S. exiguus* al 15 y 30%, con el objeto de detectar un eventual efecto dosis-respuesta en la incorporación de levadura como fuente de proteína.

En base a las recomendaciones de Tacon (1987), Akiyama (1988), Cruz-Ricque (Com. Pers. 1992) y con el análisis proximal de los ingredientes (ver tabla 2), se formularon las dietas de acuerdo con los requerimientos nutricionales para camarón en la talla utilizada (formulación con el programa MIXIT-2, 1992).

Con el objeto de conseguir dietas tanto isoproteicas como isolipidicas y que además cubran con los requerimientos para un buen crecimiento y desarrollo de los camarones, se vario el porcentaje de la H. de pescado, H. de trigo, metionina, lecitina de soya y aceite de pescado en la formula, cada vez que se variaba la especie o el nivel de incorporación de la levadura en la dieta (requerimientos tomados de Tacon, 1987, Akiyama, 1988 y Akiyama y Dominy, 1989).

Tabla 1. Dietas experimentales fabricadas con Levina y *S. exiguus*.

Levadura	0%	15%	30%
Levina	I = CONTROL	II	III
<i>S. exiguus</i>		IV	V

MATERIAS PRIMAS E INGREDIENTES ESPECIALES

ANÁLISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS

Para la fabricación de las dietas se utilizaron ingredientes convencionales de uso comercial.

El análisis proximal de los ingredientes, la elaboración de las dietas y el análisis proximal de las mismas, se llevo a cabo en el Laboratorio de Alimentos de la FCB-UANL.

Se usó el método de análisis proximal descrito por A.O.A.C. (1980), para establecer los siguientes parámetros:

Parámetro	Método
Humedad	Gravimétrico
Extracto etéreo	Gold Fisch
Fibra cruda	Labconco
Proteína	Kjeldahl
Ceniza	Gravimétrico
ELN	Por diferencia

Además se determinó el contenido de ácidos nucleicos de las levaduras con el método descrito por Ramírez y Leonel (1987).

LEVADURA EXPERIMENTAL

CONDICIONES DE TRABAJO EN EL FERMENTADOR (Palacios, 1993)

a) **Activación de la cepa.** - *S. exiguus* se activo en agar malta, incubandola a 27°C por 24 hr, de ahí se tomaron varias asadas y se inoculó un Matraz Erlenmeyer (250 ml de capacidad) con 50 ml de un medio de cultivo con etanol sintético de la compañía Celanese Mexicana, S.A., al 0.1%; manteniéndolo en un agitador rotatorio a 200 RPM, durante 18 a 24 hr y 27°C.

b) **Producción y condiciones en el fermentador.** - Se uso un fermentador de 14 l, (New Brunswick Scientific, Modelo MF-214), con una agitación de 500 RPM, una aireación de 1 VVM y la cepa fue inoculada al 1% del volumen total. Se trabajó a una temperatura de 27°C, a un pH 5, ajustándolo con HCl a 1N o NaOH a 1N durante las 30 hr de fermentación y con un antiespumante tipo "A" (Dow Corning). El medio de cultivo consistió en etanol sintético (1% del volumen total), una solución mineral y líquido de remojo de maíz (Productos de Maíz S.A. de C.V., Guadalajara, Jal.), estabilizando el medio a un pH de 4.5-5 (ver curvas de calibración y composición de la solución mineral y líquido de remojo de maíz en el apéndice).
Nota: se utilizó etanol sintético como fuente de carbón y energía en el medio de cultivo para propagar la levadura *S. exiguus*, ya que este microorganismo presenta una buena característica de producción de biomasa en este sustrato (Dr. L.Galan Wong y M. en C. L. Palacios Cortez, Com. Pers. 1993).

- 1.- Durante la fermentación, la medición del pH se llevo a cabo con un electrodo de pH "Ingold" conectado directamente al fermentador y para corroborarlo se midió por separado una muestra con un potenciómetro.
- 2.- La determinación de la DO, se cuantificó en forma anticipada a la fermentación, hasta obtener una fase estacionaria. Esta determinación se hizo con un electrodo de oxígeno "Johnson Borkowsky" a base de plata y plomo, el cual independientemente de medir la actividad del oxígeno, nos permitió conocer el porcentaje de saturación del gas en el medio de cultivo. Esta información es muy importante ya que nos permite visualizar si el fermentador es capaz de cumplir con la demanda de consumo de oxígeno.
- 3.- Para determinar la biomasa de levadura durante un período de fermentación, se tomaron 15 ml del medio cada dos horas; esta muestra se depositó en papel aluminio tarado y se secó (por unas horas) a 100°C, pesando la muestra al final. En el momento que la biomasa del fermentador se estabilizaba, es decir, que no había un aumento significativo en el peso del papel aluminio, este se cosechaba.

La cantidad mínima de fabricación de un alimento experimental es de 1 kg, por lo tanto se requirió una producción de 1,875 g de *S. exiguus* (P.H.) o 469 g (P.S.) para elaborar las dietas.

LEVADURA CONTROL

La "Levina" es un producto comercial de la compañía SAFMEX de Toluca, México, y está constituido de *S. cerevisiae* seca e inactiva.

Se escogió esta levadura como control comercial, para comprobar el valor nutricional de la levadura en dietas para camarón.

Para elaborar las dietas se utilizaron 450 g (P.S.).

FABRICACION DEL ALIMENTO EXPERIMENTAL

Los alimentos fueron procesados en el Laboratorio de Alimentos (FCB-UANL) mediante el método de extrusión (vía húmeda) de la mezcla de materias primas en un molino de carne (Hobart).

Los ingredientes fueron pasados por un molino de cuchillas y luego tamizados (500 µm de luz de malla), para ser posteriormente almacenados, en recipientes herméticos de plástico, a una temperatura de 4°C.

Los ingredientes secos se mezclaron en una batidora Kitchen Aid Classic con capacidad de 5 l; después se incorporaron los aceites y se homogeneizo la mezcla; al final se hidrato con agua caliente (40% aproximadamente) hasta obtener una pasta homogénea.

La levadura fue incluida a la mezcla antes de la etapa de hidratación.

Después de esto y con la ayuda del molino de carne se procedió a la fabricación de pellets, de 2 mm de diámetro, los cuáles fueron secados en una

estufa a 35°C durante 12 hr. En el proceso de extrusión húmeda (40% de humedad en la mezcla), la temperatura que alcanzó el alimento a la salida del dado fue de 65 a 72°C. Una partícula de la mezcla posee un tiempo de permanencia en el barril de 2 min aproximadamente y se necesita 20 min en total para pasar 1 kg de mezcla (Espinoza, 1992).

* En el caso de *S. exiguus* no se hidrató la dieta, ya que el producto se utilizó en base húmeda (75.9% de humedad).

LIXIVIACION DEL ALIMENTO.

Las pruebas de lixiviación se emplean para determinar la pérdida de materia seca y la estabilidad de las dietas en el agua; para estas pruebas se utiliza un aparato de fabricación casera que permite mover el alimento en el agua (Técnica Aquacop, 1978; Meng, 1983 y Cruz-Ricque, 1987).

Con el objeto de investigar la lixiviación, se le hicieron pruebas a las dietas introduciéndolas en agua dulce o marina (35 ppt), a una temperatura de 30°C y con un tiempo de permanencia en el agua de 60 min.

El alimento fue colocado en una canasta de tela metálica (luz de malla de 1 mm) de 10 cm de ancho, 10 cm de largo y 10 cm de altura. Estas canastas, antes de ser empleadas, se secaron durante una noche en un horno a 100°C.

Para cada dieta, se pesaron 3 canastas vacías (Pc), se les colocó 10 g a c/u y se pesaron nuevamente (P1), después se introdujeron al agua de lixiviación (dulce o marina) por una hora (Romero, 1993). Las canastas presentaron un movimiento circular de 5 RPM, sin que la dieta saliera del agua.

Al final de esta fase, las canastas se secaron en el horno a 100°C por 8 hr y se pesaron, la pérdida en materia seca se evaluó conforme a la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida en materia seca} = \frac{(P1 - Pc) \times MS - (P2 - Pc)}{(P1 - Pc) \times MS} \times 100$$

en donde: P1 = peso canasta + alimento

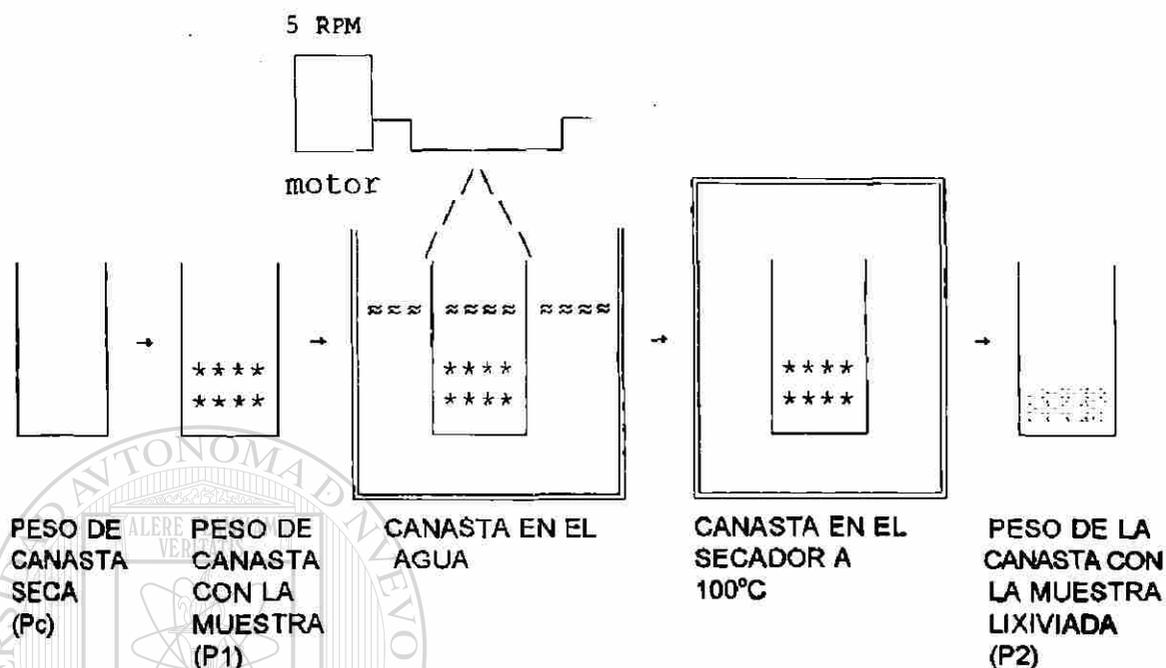
Pc = peso canasta seca.

MS = relación peso materia seca/peso alimento inicial.

P2 = peso canasta + alimento lixiviado secado.

Para preparar un litro de agua de mar a 35 ppt, se mezclan 17.6 g de super concentrado marino de Fritz (M.R.) y 24.01 g de sal seca sin aditivos.

ESQUEMA BASICO DE LIXIVIACION.



CONDICIONES EXPERIMENTALES SALA DE BIOENSAYOS PARA CAMARON

Para evaluar el efecto de la incorporación de las levaduras en dietas para camarón, se efectuó en la sala de bioensayos del laboratorio de Maricultura en la FCB-UANL; en donde los parámetros fisicoquímicos entre tratamientos (dietas) y replicados (acuarios), se pueden controlar. Está cuenta con 48 acuarios de fibra de vidrio, abastecidos con agua marina (9 recambios al día) y aire (3 litros de aire por minuto), así como de tres tanques de aclimatación y preengorda, para elegir lotes experimentales homogéneos.

A continuación se brinda una pequeña descripción técnica del sistema de recirculación de agua marina (Ver diseño en el apéndice I).

Además de los 48 acuarios y 3 tanques de preengorda ya mencionados, la instalación comprende lo siguiente:

- 5 tanques de 1500 litros, tres de los cuales son colectores y dos son reservorios, que están, en posición elevada y abastecen de agua a los acuarios. El sistema cuenta además con dos bombas y tubería para la recirculación del agua, dos contactores biológicos rotativos y dos espumadores ubicados en los reservorios para oxidar el amonio y separar las proteínas disueltas respectivamente.
- 2 turbinas de aire y tubería para el suministro de aire de acuarios y espumadores.

- circuito separado de agua dulce con un boiler y bomba de recirculación para calentar el agua de mar por medio de un serpentín de manguera hundido en los tanques reservorios.
- tinaco y tubería de abasto en agua dulce.

PARAMETROS FISICOQUIMICOS

Los parámetros fisicoquímicos que se determinaron diariamente en el agua fueron: temperatura y salinidad y semanalmente el oxígeno disuelto, pH, amonio, nitritos, nitratos. El flujo de agua y flujo de aire se igualaron en cada acuario al inicio del experimento. El amonio, los nitritos y los nitratos se determinaron mediante las pruebas colorimétricas de Aquarium System.

Los parámetros que se presentaron durante el experimento fueron los siguientes:

- 1) Temperatura: 27 a 29 °C.
- 2) Salinidad: 33 a 35 ppt.
- 3) Oxígeno: 7 a 9 ppm.
- 4) pH: 8.1 a 8.7.
- 5) Amonio no disuelto: 0 a 0.1 ppm.
- 6) Nitritos: 0 a 0.2 ppm.
- 7) Nitratos: 10 a 20 ppm.
- 8) Flujo de agua: 0.35 l/min (9 recambios al día)
- 9) Flujo de aire: 3 litros de aire por minuto.

ORGANISMOS

ORIGEN

Se utilizaron camarones *P. vannamei* de 1 a 2 g de peso, los cuales provenían de la granja "Las Lomitas" (Sinaloa, México) y fueron trasladados a la Cd. de Monterrey, vía aérea, en bolsas de polietileno con agua marina y oxígeno.

Los camarones fueron aclimatados, a la temperatura del agua de la sala de bioensayos, en los tanques de preengorda (dimensiones de 1.4 x 1.15 x 0.4 m) con capacidad de 500 l y recibieron la dieta control como alimento balanceado.

DISTRIBUCION

Para el bioensayo, se seleccionaron camarones con una talla de 1 a 1.76 g, los cuales fueron pesados individualmente en una balanza digital (Ohaus E400D) y distribuidos en cubetas equipadas con un difusor de aire.

Los organismos del rango de talla seleccionado, fueron pesados nuevamente y distribuidos al azar a una densidad de nueve organismos por acuario (replicados), con tres acuarios por dieta (tratamiento). Los tratamientos y sus tres replicados fueron distribuidos en tres bloques de cinco acuarios c/u, en cada bloque existía un

replicado del tratamiento, el orden del mismo dentro del bloque fue determinado al azar.

Al día siguiente, los individuos que murieron a causa del estrés por el manejo fueron reemplazados y se empezó a alimentar a los camarones con las dietas experimentales.

MANEJO DIARIO

Los camarones fueron alimentados *ad libitum* con una tasa de alimentación inicial del 10%, respecto a la biomasa. El alimento fue distribuido diariamente en dos raciones, un 30% en la mañana y un 70% en la tarde.

Los desperdicios alimenticios, las mudas y los camarones muertos se sifonaban diariamente. El registro de estas observaciones nos permitían ajustar, cada dos días, la tasa de alimentación por acuario y de esta manera; nos aseguramos que no se desperdiciara alimento y que la tasa de conversión fuera lo más correcta posible. Los camarones fueron pesados al inicio, 14 y 28 días de experimentación.

PARAMETROS BIOLÓGICOS

Peso inicial (Pi) = Peso individual de los camarones al empezar la experimentación. El registro de este parámetro, con la precisión de mg, fue necesario para comprobar la homogeneidad de los camarones al empezar el experimento y asegurar, que las diferencias observadas al final del mismo fueron debidas al alimento utilizado durante el bioensayo.

Peso final (Pf) = Peso individual de los camarones a los 14 días (Pf14) o 28 días (Pf28) de experimentación. Este parámetro fue la base de los análisis estadísticos (método Duncan), ya que nos permite comparar los pesos promedios obtenidos por las diferentes dietas experimentales.

Tasa de crecimiento (TC) = Peso ganado en relación con el peso inicial.

$$TC = \frac{\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}}{\text{peso inicial (g)}}$$

Este parámetro describe el crecimiento generado por las dietas independientemente de los pesos iniciales y nos permite comparar diferentes experimentos.

Tasa de conversión alimenticia (TCA) = Gramos de alimento consumido por gramos de peso corporal ganado.

$$TCA = \frac{\text{alimento consumido (g)}}{\text{peso ganado (g)}}$$

Este parámetro nos permite establecer la eficiencia de las dietas y combinada con la estimación de los costos de las diferentes formulas, fue la base para el análisis económico de las mismas (Martínez, 1991).

Tasa de sobrevivencia (TS) = Porcentaje del número de animales que sobrevivieron durante experimento.

$$TS = \frac{\text{No. final de animales}}{\text{No. inicial de animales}} \times 100$$

Este parámetro nos permite determinar la adaptación de los camarones a la sala de bioensayos, a las dietas y comprobar el buen desarrollo (Martínez, 1991).

ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar las diferencias y/o semejanzas significativas de los pesos individuales iniciales y finales, se les aplico un prueba de homogeneidad de varianza o prueba de Bartlett, seguido de un análisis de varianza y un prueba de comparación de medias por el método de Duncan (Martínez, 1991 y Espinoza, 1992).

A la tasa de crecimiento, sobrevivencia, consumo y tasa de conversión alimenticia se les aplico el análisis estadístico descrito anteriormente. Para esto se utilizaron los valores estimados por acuario, de esta forma, se contó con tres datos por dieta.

También se uso un análisis de varianza sobre los pesos individuales o finales en los diferentes replicados de un mismo tratamiento, con el objeto de comprobar la buena reproductibilidad entre los acuarios que recibieron una misma dieta.

Se utilizó una computadora PC y el programa SPSS todos los análisis.

FACTIBILIDAD ECONOMICA

Se determinó la relación costo-beneficio, según los resultados obtenidos en el bioensayos y en el costo de los ingredientes, usados en la fabricación de las dietas.

RESULTADOS

ANÁLISIS PROXIMAL

El análisis proximal de los ingredientes (ver tabla 2), nos permitió formular dietas que fueran tanto isoproteicas como isolipídicas (ver tabla 3 y figura 2); el nivel de proteína varió de 35.20 a 35.98% y el de lípidos de 5.63 a 6.33%. El contenido de proteína en el análisis proximal de las levaduras esta subestimado, ya que el NNA esta considerado dentro del mismo; de manera que el valor real de proteína utilizado en la formulación de las dietas, es la suma de la proteína y del NNA (requerimientos tomados de Tacon, 1987, Akiyama, 1988 y Akiyama y Dominy, 1989).

Tabla 2. Análisis proximal de los ingredientes en base húmeda (%).

INGREDIENTES	HUM.	PRO.	LIP.	CEN.	FIB.	ELN	NNA
Levina	3.52	29.12	1.31	6.44	0.18	48.08	8.7
<i>S. exiguus</i>	1.09	42.4	0.32	8.72	2.89	37.35	7.81
H. de Pescado	1.93	64.20	7.46	13.13	0.55	12.73	—
H. de Trigo	5.69	11.48	1.03	0.45	2.07	79.39	—
H. de Soya	7.24	43.76	2.28	7.21	2.47	37.04	—
H. de Camarón	3.53	32.79	7.76	27.26	5.71	22.91	—
Gluten de Maiz	3.29	44.76	2.22	7.96	3.03	38.74	—

Nota: la harina de soya es del tipo desgrasada mecánicamente.

Tabla 3. Análisis proximal de las dietas en base seca (%).

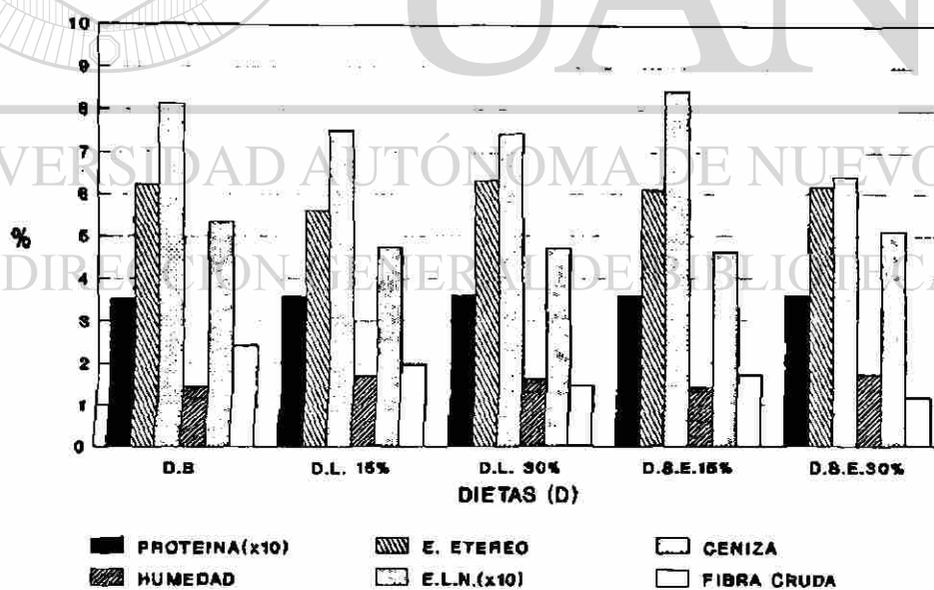
DIETAS	I	II	III	IV	V
PROTEINA	35.20	35.65	35.90	35.98	35.84
GENIZA	8.12	7.25	7.44	8.45	6.43
LIPIDOS	6.22	5.63	6.36	6.09	6.17
HUMEDAD	1.46	1.71	1.64	1.41	1.72
FIBRA	2.43	1.95	1.48	1.71	1.18
ELN	53.43	47.54	47.21	46.36	51.24
NNA [*]	—	1.30	2.61	1.17	2.34

* NNA = Resultado obtenidos con el Mxit-2+

Tabla 4. Composición de las dietas experimentales.

DIETAS	I	II	III	IV	V
INGREDIENTES VARIABLES (%)					
Levina	—	15	30	—	—
<i>S. exiguus</i>	—	—	—	15	30
H. de Pescado	30	21	12	19	8
H. de Trigo	36.4	29.65	22.9	31.65	25.9
Lecitina de Soya	1.7	1.5	1.28	1.7	1.7
Ace. de Pescado	1.78	2.5	3.2	2.25	3.5
Metionina	0.012	0.97	1.44	0.73	0.75
INGREDIENTES CONSTANTES (%)					
H. de Soya	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5
H. de Camarón	6	6	6	6	6
Gluten de Maíz	8	6	8	8	8
Mez. Vit.	1	1	1	1	1
Aglutinante	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6

* Ver en el apéndice la composición de la mezcla vitamínica.



L (LEVINA-*S. cerevisiae*)
 S.E.-*S. exiguus*)
 B.-Base

Figura 2. Análisis proximal de las dietas elaboradas con levadura *S. exiguus* y Levina.

VIABILIDAD DE LA LEVADURA *S. exiguus*

Se presentó una disminución del NCTO de *S. exiguus*, durante su pasó a través del molino de carne (ver tabla 5), está tenía valores iniciales de 7.96×10^7 Cél/g y pasó a 1.7×10^4 y 1.06×10^4 en las dietas terminadas al 15 y 30%.

Tabla 5. Viabilidad de la levadura *S. exiguus* al ser extruida con el alimento (Cél/g).

	PURA	EXTRUIDA AL 15 %	EXTRUIDA AL 30 %
NCTO	7.96×10^7	1.7×10^4	1.06×10^4

LIXIVIACION

Las dietas mostraron una estabilidad mucho más baja en el agua dulce que en agua marina, es decir, que la pérdida de materia seca (PMS) fue mucho más fuerte en el agua dulce que en agua salada (ver tabla 6). Las dietas IV y V perdieron hasta un 36 a 48% de su materia seca en el agua marina, respectivamente; las dietas II y III perdieron un 22% y la dieta control o I, tan solo 2.75%.

Tabla 6. Perdida de materia seca de las dietas en diferentes tipos de agua (%).

		DIETAS				
		I	II	III	IV	V
AGUA						
DULCE	PMS	11.25	34.72	37.61	85.88	88.10
MARINA	PMS	2.75	21.75	22.61	35.84	47.88

BIOENSAYO

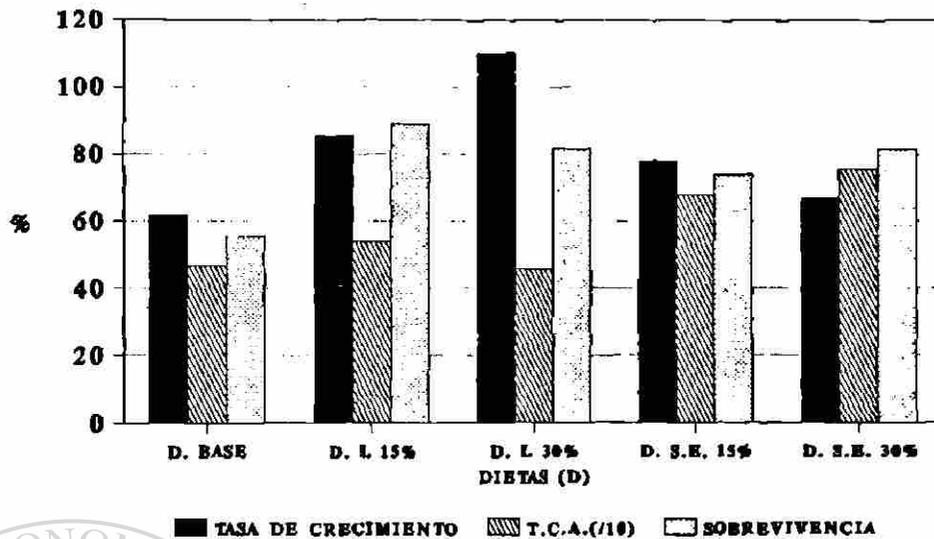
El peso final de los camarones alimentados con la dieta III, fue significativamente más alto y presentaron, una tasa de crecimiento de hasta un 110.05%, diferenciándose de la dieta control en un 48.23%. El resto de las dietas carecieron de diferencias significativa con respecto a la dieta control (ver tabla 7).

Los camarones alimentados con la dieta control, mostraron la sobrevivencia más baja de todas las dietas (55.55%), la dieta II tuvo el valor más alto (88.88%) sin diferir significativamente con las dietas III, IV y V (ver tabla 7 y figura 3).

El consumo de alimento fue más alto en las dietas con levadura que en la dieta control. Las dietas con *S. exiguus*, presentaron el mayor consumo.

Los camarones alimentados con la dieta III, presentaron una tasa de conversión alimenticia (TCA) y de crecimiento, significativamente mejores con respecto a las otras dietas (ver tabla 7 y figura 3), además, presentó el mejor incremento promedio y una de las mejores sobrevivencias (81.42%).

Se realizó una TCA teórica al ajustar el valor de la tasa de conversión alimenticia con la lixiviación de cada dieta (ver tabla 6). En este dato, la dieta III presentó nuevamente el valor mas bajo de TCA de todas las dietas, la dieta II, IV y V mostraron un importante descenso de la TCA inicial. Con esta corrección, las dietas con levaduras demuestran tener una mejor TCA que la dieta control (ver tabla 7).



L = LEVINA = (*Saccharomyces cerevisiae*)
 S. E = (*Saccharomyces exiguus*)
 B = (Base)

Figura 3. Tasa de Conversión Alimenticia, de Crecimiento y Supervivencia de los camarones (28 días de bioensayo).

Tabla 7. Resultados del Bioensayo de uso de diferentes levaduras como fuente de proteína para la alimentación de camarón blanco *P. vannamei*.

Dieta	I	II	III	IV	V	Prob.
Peso inicial prom.(g)	1.32	1.32	1.32	1.32	1.32	
Peso final Prom. (g)	2.13 _a	2.45 _a	2.77 _a	2.35 _a	2.21 _a	0.0006
Incremento (g)	0.81	1.13	1.45	1.03	0.88	
Densidad inicial (g/m ²)	66	66	66	66	66	
Densidad final (g/m ²)	59.1	108.8	112.8	87.03	90.03	
Tasa de crecimiento (%)	61.82 _a	85.37 _a	110.05 _a	77.95 _a	66.93 _a	0.0036
TC/TC de DB	100	138.09	178.01	126.10	108.26	
No. inicial	27	27	27	27	27	
No. Final	15	24	22	20	22	
Supervivencia (%)	55.55 _a	88.88 _a	81.48 _a	74.07 _a	81.48 _a	0.0188
Consumo promedio (g/c)	3.80 _a	6.12 _a	6.66 _a	7.00 _a	6.71 _a	0.0023
T.C.A.	4.66	5.41	4.58	6.79	7.54	0.0266
T.C.A. teórico	4.56	4.23	3.55	4.36	3.97	

Los valores con la misma letra no difieren significativamente ($P < 0.05$).

** Tasa de Conversión Alimenticia.

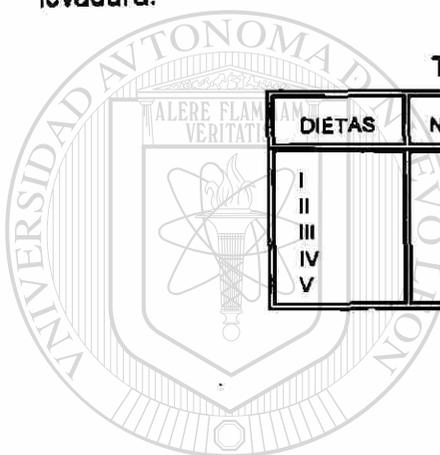
COSTOS

Al considerar el precio de los ingredientes y la tasa de conversión alimenticia obtenida con cada dieta, podemos determinar el costo de la misma y del alimento para producir un kilogramo de camarón (el precio de los ingredientes están considerados en nuevos pesos y son de Septiembre de 1992).

Como podemos observar en la tabla 8, la dieta III tiene la mejor tasa de conversión alimenticia (TCA), sin embargo debido al alto costo de la dieta (N\$2.90), el costo por Kg de camarón producido (CCA) fue de N\$13.28; la dieta control (I), por su parte, presentó una TCA mayor que la dieta III (4.66 y 4.58 respectivamente) y un CCA menor (47%), esto debido principalmente al bajo costo de la dieta. Aun con el ajuste de la TCA al tomar en cuenta la lixiviación (TCAt), el costo por kg de camarón producido (CCAt) en la dieta control es más bajo que en las dietas con levadura.

Tabla 8. Costos de las dietas.

DIETAS	N\$ m.n./Kg	TCA	CCA	TCAt	CCAt
I	1.50	4.66	6.99	4.56	6.84
II	2.19	5.41	11.84	4.23	9.28
III	2.90	4.58	13.28	3.55	10.29
IV	2.52	6.79	17.11	4.38	10.98
V	3.65	7.54	26.84	3.97	14.49



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSION Y CONCLUSION

ANALISIS DE INGREDIENTES Y DIETAS

El contenido de nitrógeno proveniente de los ácidos nucleicos de la levadura fue de 5 a 12% de su peso seco (Kihlberg 1972, Aftack y Matty 1979, Rose 1979, Crueger y Crueger 1984 y Espinoza, 1992). Esto puede llegar a ocasionar variaciones en las tasas de crecimiento y conversión alimenticia de los camarones, debido principalmente a que la cantidad de nitrógeno aminoácídico (proveniente de aminoácidos), que se suministra con las dietas, es insuficiente. Para evitar esto, fue necesario determinar primero la cantidad de ácidos nucleicos presentes en la levadura seca y posteriormente el porcentaje de proteína en la misma.

El análisis proximal y la extracción de los ácidos nucleicos, reveló que el 8.7% de la proteína proveniente de la levadura *S. cerevisiae* "Levina" es de origen no aminoácídico y el 7.81% de la proteína de *S. exiguus* es de la misma fuente, estos valores son comparativos a los anteriormente descritos para la levadura (Sánchez-Muñoz et al 1979, 1982, 1983; Tacon y Cooke, 1980). Podemos considerar, por lo tanto, que el contenido de proteína de *S. cerevisiae* "Levina" fue de 29.12% y el de *S. exiguus* de 42.4%; al tomar en cuenta estos valores al momento de formular, se logro obtener dietas más isoproteicas e isolipídicas (Roques y Dussert, 1991 y Espinoza, 1992).

VIABILIDAD DE LA LEVADURA

La sobrevivencia de la levadura en las dietas, se vio afectada por la extrusión húmeda realizada en el laboratorio, presentando valores finales de 10^4 Cél/g y un factores de inactivación de 10^3 (ver tabla 5). Estos valores son muy similares a los reportados por Espinoza (1992) y al igual que los descritos por Lewis (1990), Roques y Dussert (1991); es necesario encontrar una forma para proteger la levadura contra el calor que se genera durante el extruido, sin embargo, en el caso de este experimento, la inactivación de la levadura *S. exiguus* no cobra importancia porque se trata de tomar su valor nutritivo como fuente de proteína y no como probiótico.

LIXIVIACION

La estabilidad se ve afectada por el tipo de agua que se utiliza en las pruebas de lixiviación, lo que se demuestra con la tabla 6 en donde las dietas que fueron expuestas al agua dulce poseen una mala estabilidad y el mayor porcentaje de perdida de materia. Esto se debe principalmente a que el agua dulce posee una mayor capacidad de disolución que el agua marina a 35 ppt.

Este tipo de prueba es utilizada muy frecuentemente por acuacultores, quienes para revisar la estabilidad del alimento, depositan un poco en frascos con agua y ven la cantidad de materia que se pierde y el grado de hidratación de los pellet; sin embargo si estos acuacultores no toman en consideración el utilizar el agua de sus estanques, en lugar de agua dulce, pueden estar subestimando la

estabilidad de sus alimentos y eliminando alimentos, que bajo condiciones más reales pueden ser utilizados perfectamente en la alimentación del camarón.

El compactante utilizado en las dietas fue el CP-1000 de la compañía ENCO S.A. de C.V., México (ver fórmula en el apéndice III), este compactante está basado en urea formaldehído y se usa en las peletizadoras con inyección de vapor. Estos aglutinantes son de doble capacidad y son activados por el vapor durante la peletización; la relación de condensación puede ser controlada durante el peletizado para dar la durabilidad y la estabilidad deseada al alimento (Tacon, 1980 a 1987). Sin la inyección de vapor (la presión y la relación de temperatura/tiempo que alcanza la peletizadora), la capacidad de aglutinación del compactante se ve reducida.

El problema de la estabilidad deficiente en las dietas con *S. exiguus*, fue un problema técnico ocasionado por la humedad que poseía la dieta, esta humedad no permitió el compactamiento adecuado de la misma. La humedad que posee la dieta puede reducir la temperatura en el extrusor de carne; como la dieta con levina estaba más húmeda que la dieta control, esto redujo la temperatura durante el extruido y afectó la capacidad de aglutinación del compactante; las dietas con *S. exiguus* estaban más húmedas que las dietas con levina y el potencial de aglutinación del compactante se ve aun más afectado. A estas dietas les fue necesario aplicar más tiempo de secado por la gran cantidad de agua que tenían al salir del molino de carne. Esta suposición se ve reflejada en los resultados de la tabla 6, en donde las dietas con levina poseen mayor lixiviación que la dieta control y las de *S. exiguus* posee mayor pérdida de materia que las dietas con levina (Lewis, 1990).

CONSUMO DE ALIMENTO

La lixiviación fue determinante en el ajuste de la ración diaria, lo que modificó así los valores que se presentaron en la TCA.

La estimación del consumo de alimento durante el experimento está basada en la tasa de alimentación diaria y cantidad de restos alimenticios que presentaron los tanques, estos fueron subestimados para todas las dietas, menos la I, debido principalmente a la alta lixiviación de las mismas (48% mínimo) (Martínez, 1991 y Espinoza, 1992). Una buena parte de la dieta se disolvía en el agua y el camarón no podía alimentarse de ella. Esto aumentó la tasa de alimentación diaria y la estimación del consumo de alimento obtenida al final del bioensayo. Además las dietas IV y V, presentaban un sabor amargo, mientras que las dietas II y III tuvieron un sabor similar al de la dieta I.

TASA DE CRECIMIENTO

Los camarones alimentados con las dietas que tenían *S. cerevisiae* "Levina" o *S. exiguus* mostraron una tasa de crecimiento superior al obtenido con la dieta control, con la dieta III (Levina al 30%) como la mejor de todas, esto es similar a los resultados de Sick *et al* (1972), Balazs *et al* (1973), Deshimaru y Kuroki (1974), Fenucci *et al* 1981, Cruz (1985) y Akiyama y Dominy (1989) quienes reportan que

el uso de la levadura es benéfica para el crecimiento de los camarones y que puede llegar a ser utilizada, en cierta medida como un sustituto de la harina de pescado debido principalmente a su aporte de proteína y digestibilidad.

TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

Diversos autores (Sick *et al.*, 1972, Balazs *et al.*, 1973; Deshimaru y Kuroki, 1974; Fenucci *et al.*, 1981; Cruz, 1985 y Akiyama y Dominy, 1989) han trabajado con este ingrediente (levaduras), pero solamente utilizándolo en concentraciones bajas y no reportan la tasa de conversión alimenticia que presentan sus camarones. Los valores encontrados en el presente estudio son demasiado altos (4.58 mínimo), como para ser considerados como representativos en la industria de alimentos para camarón, sin embargo, se pueden considerar desde un punto de vista comparativo.

Las tasas de conversión alimenticia de los camarones alimentados con levadura, están sobreestimadas debido principalmente a la lixiviación que presentaron las dietas (48% mínimo). Una buena parte de las dietas se disolvía en el agua y el camarón no podía alimentarse totalmente de ella. Esto aumentó la tasa de alimentación diaria y repercutió directamente en la tasa de conversión alimenticia.

La estimación de una tasa de conversión ajustada (TCAt) corrige el efecto artificial de la estabilidad deficiente de las dietas y permite el compararlas de manera más equitativa. Con esta corrección, las dietas con levadura demuestran tasas de conversión inferior a la de la dieta control y además, las tasas de conversión son mejores con la dosis alta, lo que confirma la apreciación positiva de las diferentes valores antes mencionados.

COSTOS

Martínez (1991) al utilizar harina de subproductos de camarón del Pacífico, recomienda su uso en la concentración más alta, aunque esto aumenta el costo de la dieta (N\$ 1.93 m.n.). Esta recomendación se debe a que el ingrediente reduce el costo por Kg de camarón producido de N\$ 3.49 m.n. (dieta base), a N\$ 2.31 m.n. (Pacífico 18%). Contrariamente a lo encontrado por Martínez (1991), la dieta control utilizada para este bioensayo, es más barata que cualquiera de las otras dietas y posee el menor costo por Kg de camarón producido.

Para que una levadura pueda incorporarse en una dieta a niveles mayores del 5% y que resulte rentable para un productor, el costo de esta deberá ser igual o menor al costo de la harinas de pescado, lo que concuerda con la recomendación de Lawrence (Com. Pers. 11 Oct. 1990) quien menciona que para que la levadura sea rentable para la acuicultura, su valor deberá ser menor a 50 centavos de dolar por Kg de levadura.

II.- PRUEBAS DE VIABILIDAD DE LA LEVADURA ACTIVA.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar el grado de desactivación de la levadura seca activa *S. cerevisiae* aglomerada, durante el proceso de fabricación y almacenamiento de las dietas, así como durante la lixiviación del alimento en el agua.

MATERIAL Y METODO

LEVADURA BIOSAF

Estudios anteriores realizados por Espinoza (1992) sugieren la utilización de una forma protegida de levadura aglomerada, para realizar los estudios de viabilidad en dietas peletizadas, ya que las presentaciones tradicionales poseen baja sobrevivencia al peletizado (99.9% de mortalidad).

La levadura *S. cerevisiae* usada para la elaboración de las dietas extruidas y peletizadas para camarón, fue donada por la compañía SAFMEX. La levadura Biosaf, es un producto experimental de SAFMEX constituido de *S. cerevisiae* seca activa aglomerada, la cual se presenta en forma de esferas (0.2-1mm de diámetro), en donde las células vivas son protegidas por una capa superficial de levaduras muertas.

Se utilizaron tres preparaciones especiales de Biosaf, la primera con un tamaño de partícula mayor de 0.8mm (Biosaf gruesa), la segunda de 0.2 a 0.8mm (Biosaf media) y la tercera de 0.2mm (Biosaf fina).

El tamizado de la levadura se realizó en SAFMEX de Toluca, bajo la supervisión del Dr. Francisco García.

Para la fabricación de las dietas peletizadas, se escogió la Biosaf fina y la gruesa, la media fue solo considerada en las pruebas de viabilidad de levadura pura y en las dietas extruidas en la FCB-UANL.

Para la fabricación de las dietas peletizadas se requirió de 3Kg de Biosaf fina y 8Kg de Biosaf gruesa. El excedente de las muestras de Biosaf se usó en Monterrey para fabricar dietas a escala experimental en un molino de carne (extrusión húmeda) y poder así comparar la inactivación de la levadura en una dieta comercial y experimental.

ANÁLISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS

El análisis proximal de los ingredientes y de las dietas terminadas se llevo a cabo de acuerdo con las técnicas ya antes descritas (ver uso de la levadura como fuente de proteína).

FABRICACION DE DIETAS PELETIZADAS

Se fabricaron una dieta control, dos dietas peletizadas con 0.1 y 0.5% de Biosaf fina y tres dietas con 0.1, 0.5 y 1% de Biosaf gruesa (Dietas de la A a la F). Se utilizaron las dietas A, B y D para el bioensayo y para el estudio de factibilidad económica.

Tabla 9. Dietas peletizadas fabricadas con Biosaf fina o gruesa.

Talla de partícula/dosis	0%	0.1%	0.5%	1.0%
Inferior a 0.2 mm (Fina)	A= CONTROL	B=F0.1	C=F0.5	
Mayor de 0.8mm (Gruesa)		D=G0.1	E=G0.5	G=G1.0%

Los alimentos fueron fabricados en la compañía NUTRIPAC (Culiacán, Sinaloa, Méx.); la cual tiene una mezcladora de 3 ton y su equipo de peletización industrial posee un mínimo de fabricación de 500 kg (ver formula de las dietas en la tabla 16).

La levadura se mezcló con los microingredientes (aminoácidos, harina de camarón, vitamina C, mezcla vitamínica y compactante) en un costal inflado y se les incorporó a la mezcla de macroingredientes (harina de pescado, trigo y soya), después de los aceites (lecitina de soya y aceite de pescado). El tiempo de mezclado de todos los ingredientes fue de 5 minutos.

El alimento tardó 12 seg en atravesar la peletizadora, la falta de ventanas en está, no permitió la toma de muestras antes del peletizado.

La temperatura del alimento, después de pasar por el dado, fue de 82°C (tres muestras fueron tomadas durante la fabricación de los alimentos dos y cuatro).

La peletizadora poseía inyección de vapor, lo que permitió al alimento recibir humedad y calor por lo menos 12 seg antes de pasar por el dado.

Nota: para cada dieta, las muestras fueron colectadas en los costales 4 y 5 (la producción total fue de 10 costales por dieta).

FABRICACION DE DIETAS EXTRUIDAS

Se fabricaron una dieta control y seis dietas experimentales con 0.1 y 0.5% de levadura fina, media y gruesa de Biosaf (Dietas de la 1 a la 7).

Tabla 10. Dietas extruidas fabricadas con Biosaf fina, media o gruesa.

Talla de partícula/dosis	0%	15%	30%
Inferior a 0.2mm (Fina)	1 = CONTROL	2=F0.1	3=F0.5
De 0.2 a 0.8mm (Media)		4=M0.1	5M0.5
Mayor de 0.8mm (Gruesa)		6=G0.1	7=G0.5

La mezcla de los ingredientes y la fabricación de las dietas extruidas se alizo de la forma ya antes descrita (ver uso de la levadura como fuente de proteína).

PRUEBAS DE VIABILIDAD

El conteo de levaduras viables y totales de *S. cerevisiae*, tanto para las muestras puras como para las dietas peletizadas y extruidas fue realizado en SAFMEX de Toluca y el conteo de levaduras viables de *S. exiguus* y la identificación de la flora microbiana del tracto intestinal de los camarones, se realizó en el Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo "Dr. H.T. Dulmage" de la FCB-UANL.

Las técnicas utilizadas para determinar el número de células totales (NCTO) y viables (NCVB), fueron indicadas por SAFMEX.

La dieta control y las peletizadas con Biosaf fina y gruesa al 0.1% fueron almacenadas durante 15 y 30 días, a temperatura ambiente y a 4°C. Al final de estos periodos se les hizo el conteo de levaduras totales y viables, a fin de conocer el grado de desactivación que sufre la levadura durante el almacenamiento, este se realizó en la Cd. de Monterrey, durante los meses de Marzo a Abril de 1993, con una temperatura promedio de 25 a 31°C.

Nota: El número de células totales (NCTO) es el número de células que se tiñen con el azul de metileno, lo que señala que poseen actividad celular, pero no necesariamente capacidad reproductiva. El número de células viables (NCVB) son aquellas células que se determinan por conteo en placa y que poseen capacidad reproductiva.

LIXIVIACION DEL ALIMENTO.

Para determinar la estabilidad de las dietas en el agua, tanto como para establecer la viabilidad de la levadura en las dietas lixiviadas y su pérdida en materia seca, se utilizó el equipo y la técnica de lixiviación descritas en el uso de la levadura como fuente de proteína.

VIABILIDAD EN DIETAS LIXIVIADAS A DIFERENTE SALINIDAD Y TIEMPO

Se determinó la viabilidad de la levadura y pérdida en materia seca de los alimentos después de haber sido puestos en agua de diferentes salinidades (5, 35 y 65 ppt), a una temperatura de 30°C y con tiempos de permanencia en el agua de 60 y 120 min (Romero, 1993). Se hicieron pruebas preferentemente a las dietas B y C, las cuales cubrieron el requisito de 10^7 NCTO/g (la selección de las dietas fue en función de los resultados de viabilidad de la levadura en los alimentos peletizados y extruidos).

La lixiviación de las dietas escogidas se realizó de acuerdo con la técnica descrita en lixiviación (ver uso de la levadura como fuente de proteína). Solo que en esta prueba las dietas no se secaron, sino que se tomaron muestras húmedas a las cuales se le realizó el estudio de viabilidad (Romero, 1993).

RESULTADOS

DISOLUCION DEL GRANULO DE LEVADURA EN LA DIETA

En todas las dietas, tanto las peletizadas como las extruidas, se separó una muestra y el pellet fue quebrado (con un mortero) hasta que perdió su forma. Se observó esta mezcla de ingredientes con un microscopio estereoscópico (4 y 6x) y aunque se podían ver claramente las partículas de los diferentes ingredientes que se utilizaron en las dietas, no se pudo encontrar ninguna partícula de levadura aglomerada (fina, media y gruesa) lo que demuestra que todas las presentaciones de Biosaf se disolvieron perfectamente en las dietas.

VIABILIDAD DE LA LEVADURA PURA

Se presentó una ligera ventaja en el NCTO (número de células totales) y NCVB (número de células viables) en la levadura fina con respecto a las levaduras media y gruesa (ver figura 4). Sin embargo podemos considerar los valores promedio de 9.9×10^9 y 7.9×10^9 Cél/g del NCTO y NCVB, respectivamente.

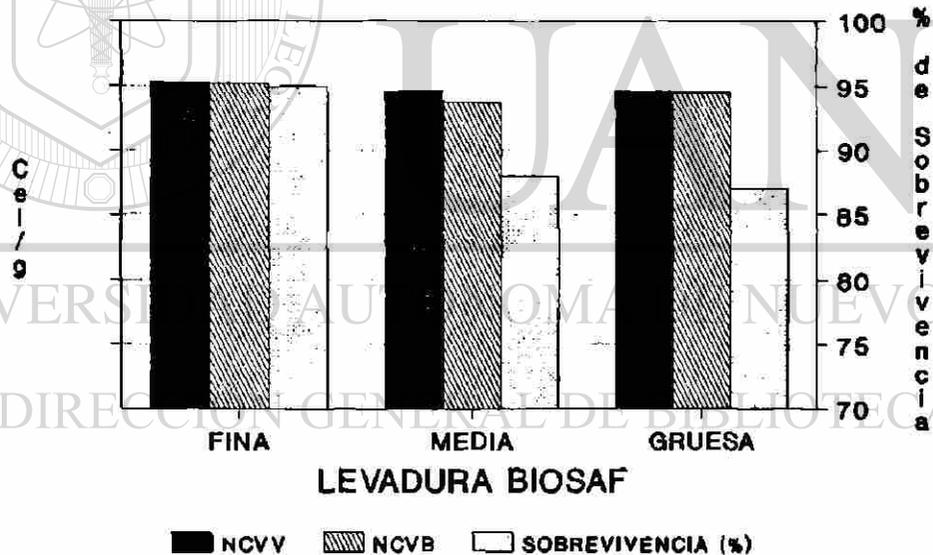


Figura 4. Viabilidad de la levadura Biosaf pura.

TEORICA EN LAS MEZCLAS

Si se hace una extrapolación del NCTO y del NCVB que se deberían de observar en los alimentos, a partir de los conteos de levadura pura y de sus porcentajes de incorporación en el alimento, se obtienen los siguientes valores:

Tabla 11. Número teórico de levadura en las dietas.

DOSIS	0.1%		0.5%		1%	
LEVADURA	NCTO	NCVB	NCTO	NCVB	NCTO	NCVB
FINA	1.3×10^7	1.1×10^7	6.5×10^7	5.3×10^7	1.3×10^8	1.1×10^8
MEDIA	8.5×10^6	5.2×10^6	4.3×10^7	2.6×10^7	8.5×10^7	5.2×10^7
GRUESA	8.2×10^6	8×10^6	4.1×10^7	4×10^7	8.2×10^7	8.2×10^7

EN LAS DIETAS PELETIZADAS

El NCTO de la Biosaf fina pura tenía una ligera ventaja con respecto a las otras presentaciones (media y gruesa), sin embargo durante el peletizado está ventaja se ve disminuida. Globalmente, el NCTO promedio de todas las dietas con levadura es de 4.4×10^7 Cél/g, ligeramente superior al valor teórico esperado, (ver figura 5).

El NCVB es significativamente mayor ($P < 0.05$) en las dietas con Biosaf fina (dietas B y C) que en las dietas con Biosaf gruesa (D, E, F), con números promedios de 1.8×10^5 y 2×10^4 Cél/g respectivamente (ver tabla en el apéndice II). Por otro lado conforme se incrementa la dosis, no crece el NCVB (ver figura 6). Esos números son mucho más bajo que los esperados (ver porcentaje y factor de inactivación en la tabla 12)

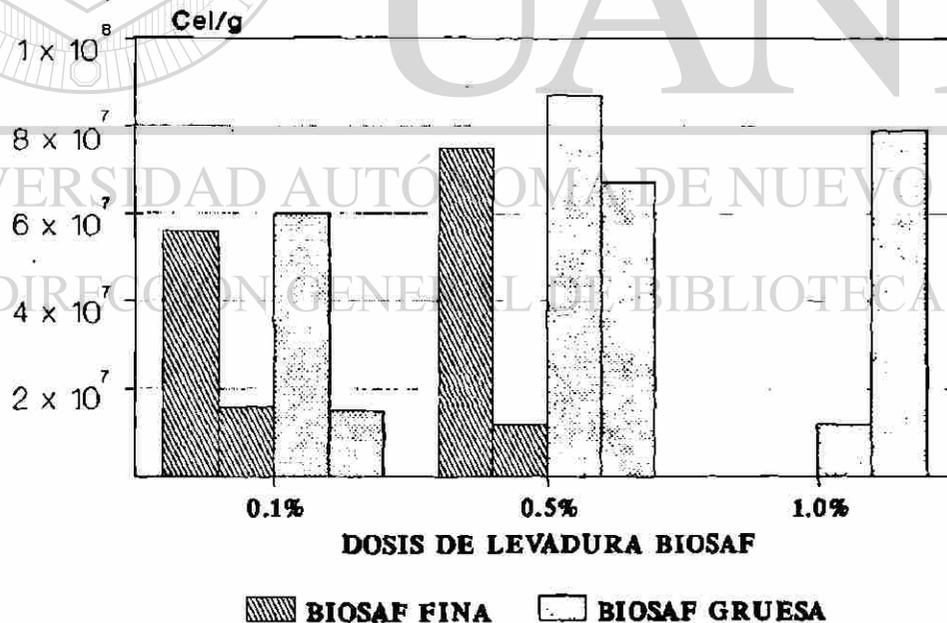


Figura 5. Células totales en dietas peletizadas.

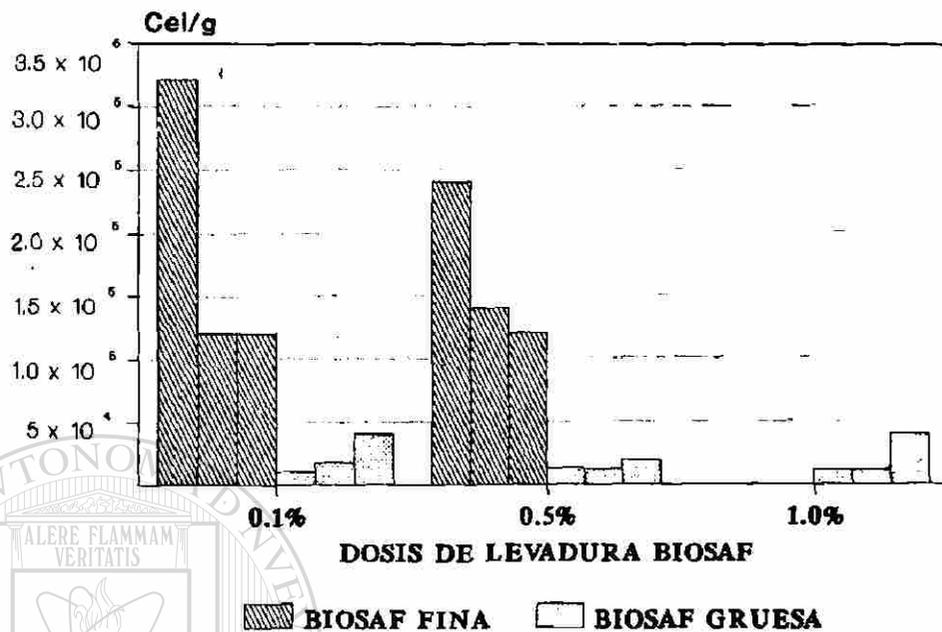


Figura 6. Células viables en dietas peletizadas.

Nota: Para la dieta testigo sin levadura, se obtuvo NCTO = 0, NCVB = 0.2×10^7 Cél/g

EN LAS MEZCLAS REALIZADAS EN LABORATORIO

En la figura 7 se muestra que el NCTO es creciente al irse aumentando la dosis de los tres tipos de levadura, fina, media y gruesa, con valores promedios de 2.9×10^8 Cél/g para la dosis 0.1% y 7.2×10^8 Cél/g para la dosis 0.5%. El NCTO solo aumenta en un factor 2 y la dosis en un factor 5 (ver tabla en el apéndice II).

En la figura 8 se observa que el NCVB de las dietas con levadura fina es mayor en comparación con la levadura media y gruesa, y disminuye ligeramente conforme se incrementa la dosis de la levadura en la dieta. Lo contrario sucede al usar la levadura mediana y gruesa, donde crece el NCVB al incrementarse la dosis de la levadura en la dieta. Sin embargo, este aumento (con un factor 2 y 4) es inferior al aumento de la dosis (factor 5). Globalmente se puede considerar un valor de 3.7×10^7 Cél/g para el NCVB de todas las premezclas (ver tabla en el apéndice II).

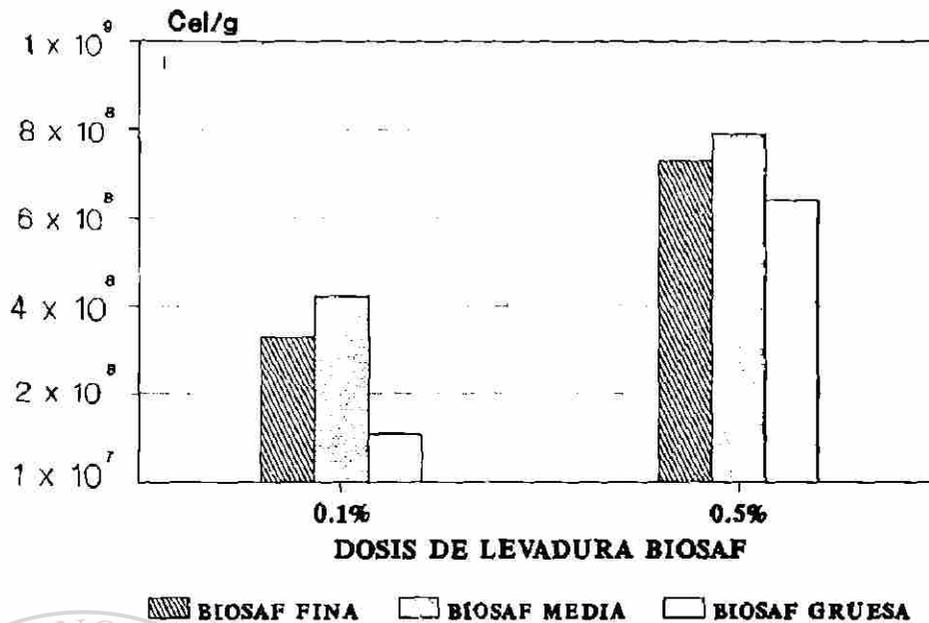


Figura 7. Células totales de levadura Biosaf en las premezclas del las dietas extruidas.

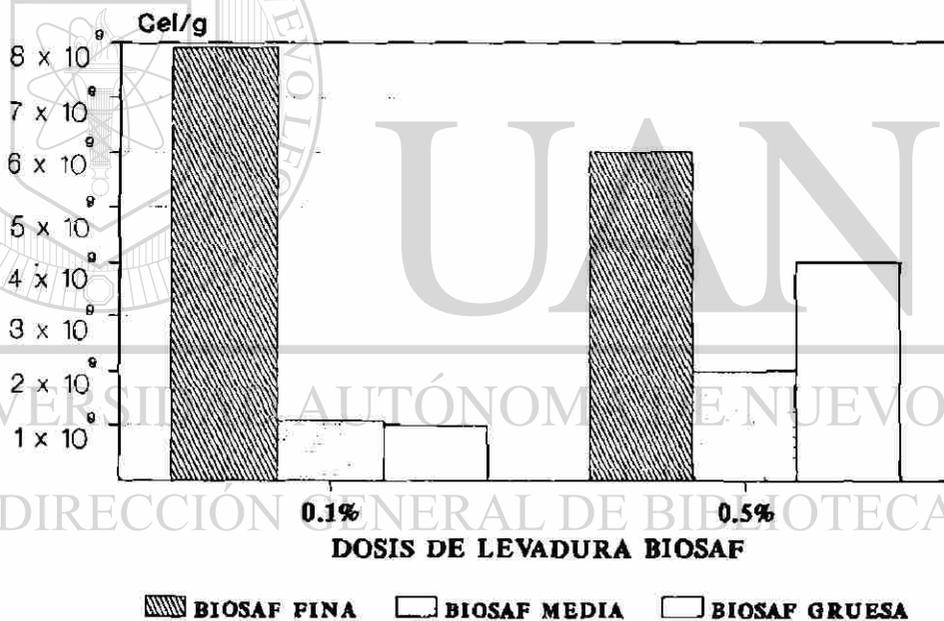


Figura 8. Células viables de levadura Biosaf en las premezclas del las dietas extruidas.

Nota: para la dieta control sin levadura, el valor de NCTO y NCVB fue de 0.

EN LAS DIETAS EXTRUIDAS

En todas las dietas extruidas, la mortalidad y pérdida de viabilidad de las células de levadura fue lo más importante. Los conteos pasaron de 5×10^8 y 3.7×10^7 células totales y viables, en las premezclas, hasta un 5×10^2 y 2.5×10^1 en las dietas extruidas (ver figuras 9 y 10).

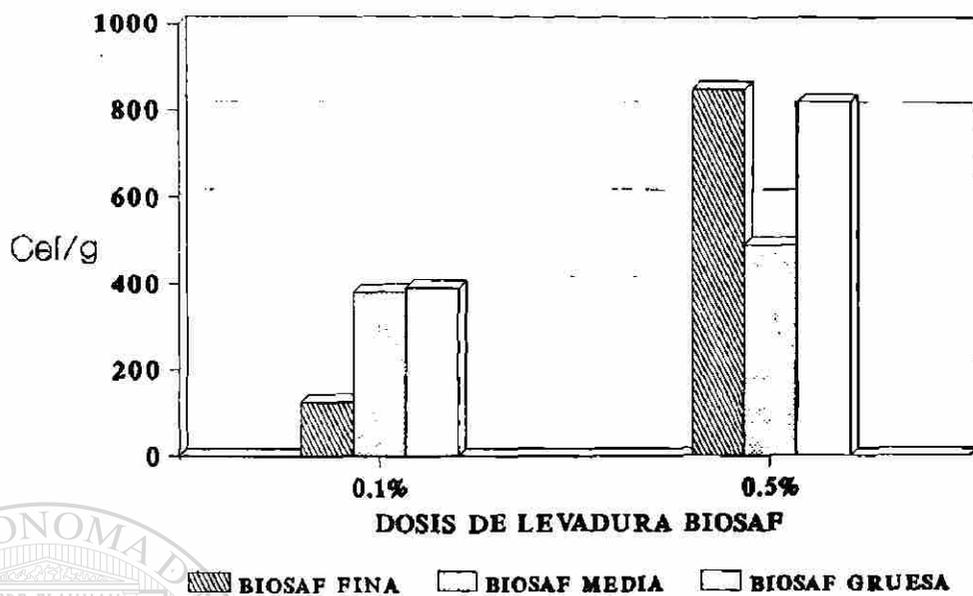


Figura 9. Células totales de la levadura Biosaf en dietas extruidas.

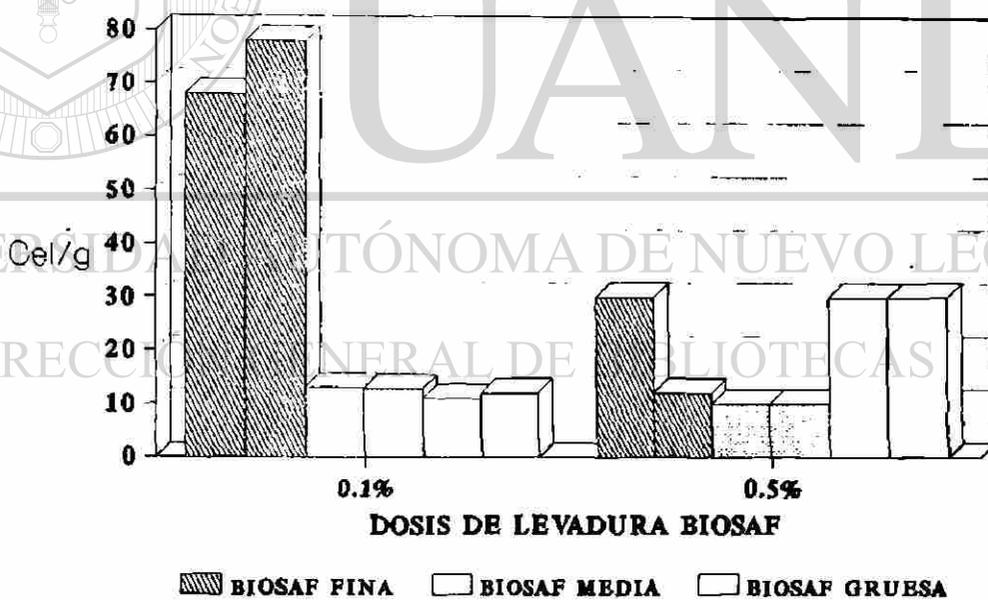


Figura 10. Células viables de la levadura Biosaf en dietas extruidas.

Nota: Para la dieta testigo sin levadura, se obtuvo NCTO = 0, NCVB = 0.05×10^1 Cél/g

EN LAS DIETAS LIXIVIADAS

Al aumentar la salinidad y el tiempo de permanencia de la dieta en el agua INCTO y NCVB disminuye ligeramente, el NCTQ queda en 10^6 Cél/g, y 10^4 Cél/g para el NCVB (ver figuras 11 y 12).

La dosis (0.1 y 0.5% de las dietas B y C respectivamente) no tiene un efecto determinante sobre los conteos de levadura en las dietas lixiviadas.

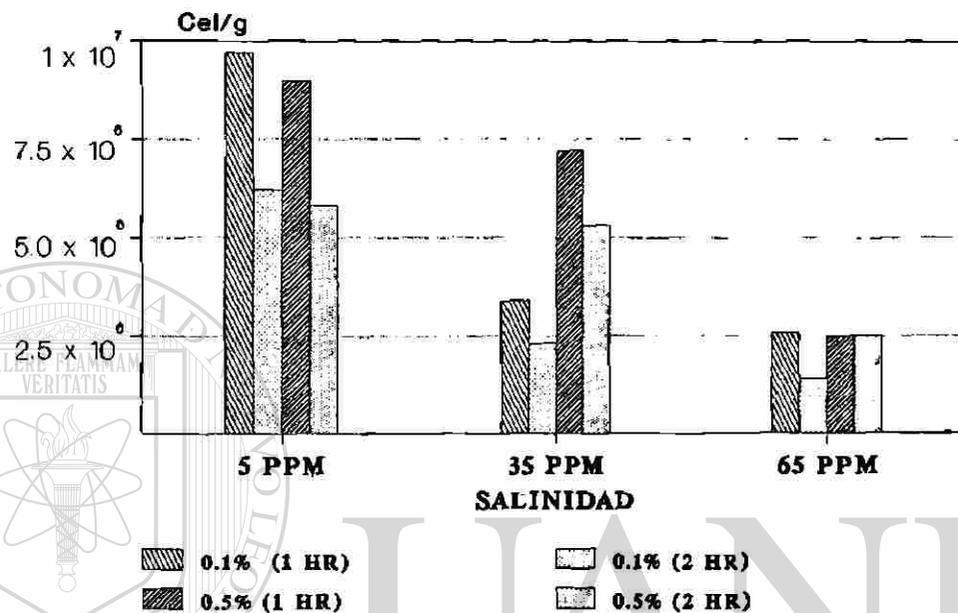


Figura 11. Células totales en dietas lixiviadas (1 y 2 horas) a diferentes salinidades (5, 35 y 65 ppt).

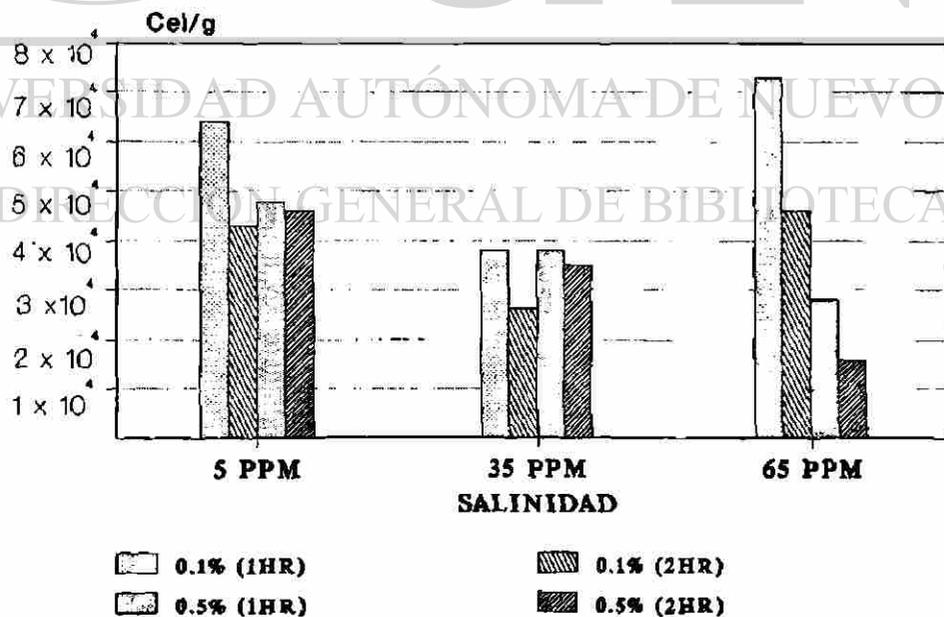


Figura 12. Células viables en dietas lixiviadas (1 y 2 horas) a diferentes salinidades (5, 35 y 65 ppt).

DESPUES DEL ALMACENAMIENTO

La tabla 12 muestra que las dietas almacenadas en refrigeración, presentan un número mayor de NCTO y NCVB que las dietas que se almacenaron a temperatura ambiente; pero sin diferencia significativa y sin tener una discrepancia muy grande con el NCTO y NCVB de las dietas al momento de ser fabricadas.

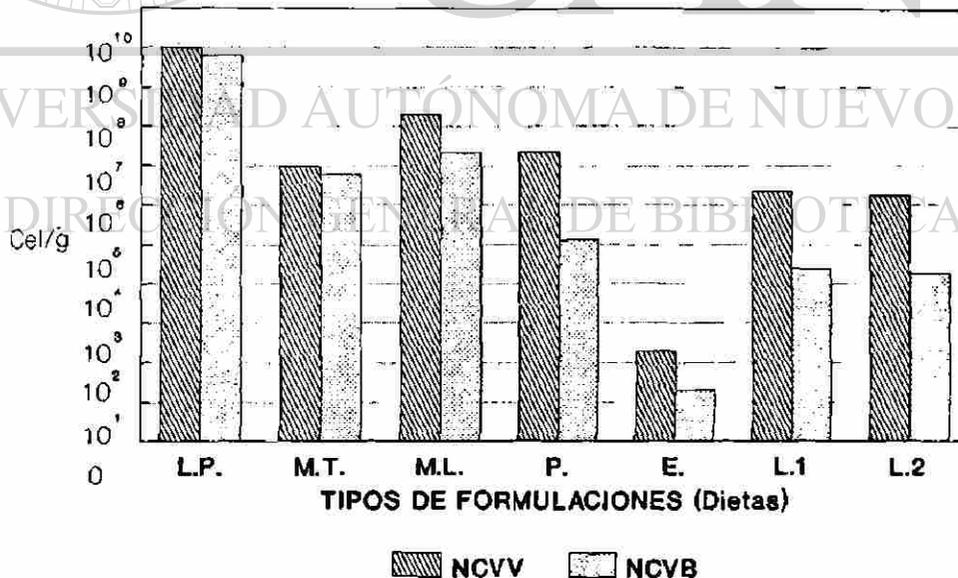
Tabla 12. Viabilidad de Biosaf en dietas almacenadas a temperatura ambiente y refrigeración.

DOSIS'	TEMPERATURA AMBIENTE*		REFRIGERACION (4°C)	
	NCTO	NCVB	NCTO	NCVB
B	1.7×10^7	1.4×10^4	2.3×10^7	4.5×10^4
Inac. (%)	52.78	92.63	36.11	76.32
D	1.8×10^7	1.1×10^4	2.8×10^7	1×10^4
Inac. (%)	51.35	52.17	24.32	56.52

* Las dietas fueron almacenadas en la Cd. de Monterrey (en recipientes de plástico hermético) durante los meses de Marzo a Abril con una temperatura promedio de 25 a 31°C.

EN LA FABRICACION, ALMACENAMIENTO Y LIXIVIACION DE LAS DIETAS.

La figura 13 permite comparar los niveles de NCTO y NCVB en las diferentes etapas del experimento. En el mezclado, el NCVB es inferior al NCTO; aunque en la levadura pura, los valores son similares. El NCTO perdió una potencia de 10 (10^8 a 10^7) durante el peletizado y otra (10^7 a 10^6) durante la lixiviación. El NCVB perdió dos potencias de 10 durante el peletizado y otra durante el lixiviado. Ambos parámetros fueron afectados por la extrusión (perdida de 6 potencias de 10).



L.P. es Lev. Pura, M.T. es la Mezcla Teórica al 0.1%, M.L. es la Mezcla de Laboratorio a 0.1%, P es peletizadas (0.1%), E es Extruidas (0.1%), L1 y L2 es en dietas con Lev. Fina (0.1%) lixivadas a 1 y 2 Hr a 95 o/oo

Figura 13. Células totales y viables durante las diferentes etapas del proceso de elaboración de las dietas con levadura Biosaf.

INACTIVACION DE LA LEVADURA EN LAS DIETAS PELETIZADAS Y EXTRUIDAS

Se calculó el porcentaje de inactivación de la levadura durante los procesos de peletización y extrusión y el factor de inactivación (factor que divide el número inicial para obtener el número de levaduras sobrevivientes)(ver tablas 13 y 14).

Tabla 13. Inactivación de la levadura Biosaf en las dietas peletizadas.

DOSIS	VARIABLE	LEVADURA FINA		LEVADURA MEDIA		LEVADURA GRUESA	
		NCTO	NCVB	NCTO	NCVB	NCTO	NCVB
0.1 %	% INACTIV.	0	98.20	---	---	0	99.71
	FACT.INACT	0.36	55.78	---	---	0.36	347.8
0.5 %	% INACTIV.	56.5	99.97	---	---	0	99.96
	FACT.INACT	2.3	382.4	---	---	0.7	2666.6
1.0 %	% INACTIV.	---	---	---	---	0	99.97
	FACT.INACT	---	---	---	---	1.09	3850

La peletización no afectó prácticamente el NCTO (factor de inactivación cerca de 1). Al contrario el factor de inactivación es alto para el NCVB (valores de 56 a 3850). Conforme aumenta la dosis, el factor de inactivación también aumenta. Por otro lado, la levadura fina es más resistente al peletizado que la levadura gruesa.

Tabla 14. Inactivación de la levadura Biosaf en las dietas extruidas.

DOSIS	VARIABLE	LEVADURA FINA		LEVADURA MEDIA		LEVADURA GRUESA	
		NCTO	NCVB	NCTO	NCVB	NCTO	NCVB
0.1 %	% INACTIV.	99.999	99.999	99.999	99.999	99.999	99.999
	FACT.INACT	1.04×10^5	1.08×10^5	2.23×10^4	4.15×10^5	2.10×10^4	6.9×10^5
0.5 %	% INACTIV.	99.999	99.999	99.999	99.999	99.999	99.999
	FACT.INACT	7.6×10^4	2.5×10^5	8.6×10^4	2.5×10^5	5×10^4	1.3×10^5

El NCTO, y el NCVB fueron todavía más fuertemente afectados por la extrusión, con factores de inactivación del orden de 10^4 para el NCTO y de 10^5 para el NCVB. No se observó un efecto determinante de la dosis o del tamaño de partícula.

LIXIVIACION

Las dietas con levadura Biosaf que fueron lixiviadas en agua dulce perdieron del 5.2 al 18.5% de su materia seca (PMS) y de 2.2 a 5.3% en el agua salada. En ambas pruebas la dieta B fue una de las que presento mayor PMS. La dieta A

presento el valor más alto en el agua dulce y tuvo uno de los valores más bajos en el agua salada. La dieta D por su parte presentó valores intermedios de PMS en ambas pruebas (ver tabla 15).

Tabla 15. Lixiviación de las dietas con levadura Biosaf en diferentes tipos de agua (%).

		DIETAS					
		A	B	C	D	E	F
AGUA							
DULCE	PMS	18.54	17.72	15.18	15.67	13.57	16.71
MARINA	PMS	2.94	5.3	2.24	5.3	4.7	2.2

La pérdida de materia seca (PMS) se ve fuertemente influenciada por la salinidad y el tiempo de permanencia de la dieta en el agua. Conforme aumenta la salinidad, el porcentaje de PMS disminuye. Al permanecer más tiempo una dieta en el agua la PMS aumenta, perdiéndose de un 8 a un 15% adicional en la segunda hora (ver figura 11). La dosis de levadura no tuvo efecto sobre la pérdida en materia seca.

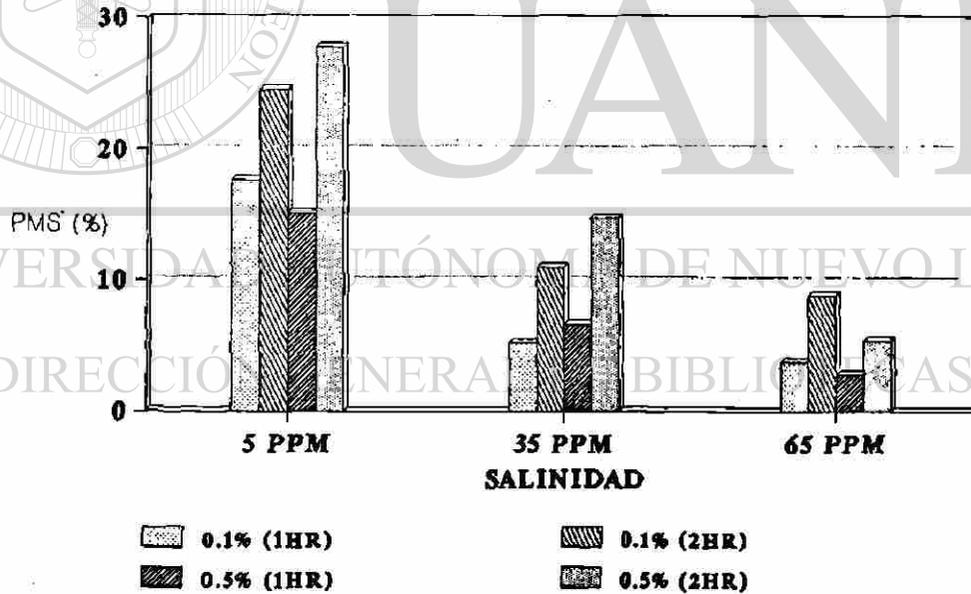


Figura 14. Pérdida en materia seca por lixiviación durante 1 y 2 horas en diferentes tipos de salinidades.

DISCUSION Y CONCLUSION

EFFECTO DOSIS DE LA LEVADURA EN LAS DIETAS

De manera general, es mínima la diferencia que existe en las dietas con 0.1, 0.5 y 1% de levadura Biosaf, sobre todo en los valores de NCVB. En varios casos, tanto en los resultados de premezclas como de dietas peletizadas o extruidas, el NCTO o NCVB observado en la dosis 0.1% puede ser superior a la dosis 0.5%, e inclusive a la dosis 1% (caso del NCVB de la dieta peletizada con 1% de levadura gruesa).

Por otro lado la variabilidad entre conteos repetidos fue muy importante (ver figuras 5 y 6). Podemos considerar que la precisión de los conteos fue del orden de una potencia de 10, aunque el conteo de levaduras totales parezca ligeramente más preciso (mejor congruencia con la dosis).

Este error estimado en un factor 10 fue debido a la dificultad de homegenizar las muestras de alimentos al momento de realizar las diluciones y sembrar las placas de Petri.

EFFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA

La ventaja de viabilidad en la levadura fina, solo se comprobó significativamente en el número de células viables de las dietas peletizadas, con una diferencia de un factor 10 y una inactivación de 5 a 6 veces menor, en comparación con la levadura gruesa (ver tabla 12). Está ventaja desaparece en las dietas extruidas, debido a la inactivación tan drástica que sufre la levadura al pasar por el molino de carne.

Las dietas peletizadas con 0.1 y 0.5% de levadura Biosaf fina, resultaron ser las mejores en el NCTO y NCVB, sin embargo su bajo porcentaje de fabricación (menor al 10%, comunicación personal con el Dr. Francisco García, SAFMEX) y su alto costo de extracción; haría que este producto quedara fuera del mercado mexicano, aunque se consideré el porcentaje de incorporación más bajo en las dietas.

EFFECTO DE LOS DIFERENTES PROCESOS

En la figura 13, se presentan los NCTO y NCVB obtenidos en las etapas sucesivas del proceso de elaboración y lixiviación de las dietas con 0.1% de levadura. Se promediaron los datos de los 3 tipos de levadura (fina, media y gruesa).

En general se presenta un NCTO muy superior al NCVB, debido principalmente a la diferencia que existe en la técnica; en la primera se determina el número de células totales, que por su adherencia al azul de metileno están activas metabólicamente pero que no poseen capacidad reproductiva y en la segundo se determinan solo las células que pueden reproducirse.

MEZCLADO

Los conteos en las mezclas realizadas en el laboratorio fueron 10 veces más elevadas que el valor teórico (10^7 en el NCVB y en NCTO para las dosis al 0.1% de levadura fina o gruesa) por dos razones posibles: una subestimación del número de células en las levaduras puras (poco probable ya que alcanzan el 10^{10}), o el inicio del proceso de multiplicación, debido a la hidratación precoz de la mezcla. Aunque la extrusión se realizó justo después del mezclado, los conteos se hicieron varios días después del muestreo de las mezclas, con el tiempo suficiente para la multiplicación de las células. Por lo tanto, el factor de inactivación (ver tablas 12 y 13) se calculó a partir de los valores teóricos esperados en las mezclas (ver tabla 11).

EXTRUSION

La extrusión húmeda tuvo un efecto drástico sobre la sobrevivencia de las células totales y viables, con niveles finales tan bajos como 10^2 y 10^1 Cél/g y un factor de inactivación de 10^4 y 10^6 respectivamente (ver tabla 13).

El factor de inactivación de 10^6 para células viables es mucho más alto que el obtenido durante la fabricación de dietas experimentales por Ricque *et al.*, (1990) y Espinoza, (1992). En este caso se obtuvieron factores de inactivación de 167 y 4333 (sobrevivencia de 0.62% y 0.02%) para las células viables de levadura Procreatin-7 en las dosis de 1 y 0.5% respectivamente (en ambos casos, se utilizó el mismo equipo y la misma técnica que se emplearon en la presente investigación).

Una explicación de esto, puede estar ligada a la disolución completa de la partícula de levadura en la dieta (observaciones al estereoscopio). Si realmente la partícula se disolvió durante el proceso, entonces la levadura se encontraba sin protección y resulta factible que su resistencia sea inferior a la de la Procreatin-7, debido a diferencias en el proceso de producción (Ricque *et al.*, 1990; Espinoza, 1992).

PELETIZACION

Supondremos que los valores teóricos de la tabla 11 son representativos para la viabilidad en las mezclas realizadas en la planta de NUTRIPAC. En este caso, obtuvimos valores de sobrevivencia a la peletización de 43.5 a 277% para las células totales (factor de inactivación de 2.3 a 0.36) y de 1.79 a 0.03% para las células viables (factor de inactivación de 55.8 a 3850)(ver tabla 12). En esta tabla se muestra que el número de células totales no fue afectado por la peletización, sin embargo, el número de células viables disminuyó conforme se incrementó la dosis y el tamaño de partícula de la levadura, con valores de NCVB de 1.9×10^5 y 2.3×10^4 Cél/g para las dietas con levaduras fina y gruesa respectivamente.

Los números de células viables de esta investigación son similares a los obtenidos con la Procreatin-7 al 1% (8×10^5 Cél/g) o al 0.5% (1.5×10^4 Cél/g) en dietas extruidas en el laboratorio (Ricque *et al.*, 1990 y Espinoza, 1992).

La humedad en las mezclas, el tiempo de permanencia en el dado y el secado son los tres aspectos del proceso que pueden explicar la diferencia que existe en la viabilidad de las dietas peletizadas y extruidas.

La primera diferencia entre las dietas peletizadas y extruidas, estriba

principalmente en una mayor humedad en las mezclas a extruir; esta humedad que puede llegar a ser del orden de 35% y es un factor que no se presenta en el proceso de peletizado, aun cuando el equipo llegue a presentar inyección de vapor. De acuerdo con Lewis (1990), entre mayor sea la humedad que entra en contacto con la levadura, el efecto de la temperatura se ve incrementado y la viabilidad y sobrevivencia de la célula, disminuye.

El tiempo de paso a través del peletizador (12 seg.) fue mucho menor que en el molino de carne (2 min. Aprox.) aunque la temperatura haya sido mayor (82°C vs 32-72°C), pero sin rebasar el tope de 85°C mencionado por Lewis (1990).

Las dietas peletizadas una vez que han salido del dado, pasan a un enfriador vertical donde el paso del aire exterior permite disminuir la temperatura del pellet. Al salir del enfriador, el pellet posee menos de un 10% de humedad en su composición. Las dietas extruidas en cambio, se secaron en un estufa a 65°C por 6 horas y después se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

LIXIVIACION

La pérdida de materia seca en el agua dulce es mucho mayor que en agua salada; este fenómeno se debe principalmente a la mayor capacidad de disolución que presenta el agua dulce con respecto al agua salada. Este punto es muy importante ya que muchos acuicultores realizan estas pruebas con sus alimentos y debe usar el agua que pasen sus estanques ya que si se utilizan agua dulce pueden estar sobreestimando la pérdida de materia seca y desechando lotes de alimentos que son de buena calidad (Romero, 1993).

La incorporación de la levadura aglomerada en dietas para camarón careció de efecto sobre la estabilidad (pérdida en materia seca) en el agua, esto es un punto positivo, ya que los acuicultores son particularmente vigilantes sobre este parámetro.

Sin embargo, es interesante recordar que no se observó ninguna partícula aglomerada en el examen estereoscópico de las dietas. Posiblemente la disolución completa de las partículas en la mezcla haya evitado un eventual efecto sobre la estabilidad de la dieta, pero al mismo tiempo al perderse el efecto protector en la pared de la partícula aglomerada se incrementó la inactivación de las células de levadura.

La viabilidad de la levadura se ve poco afectada por la lixiviación de la dieta en agua salada, esto es un punto positivo que permite determinar la factibilidad del uso de *S. cerevisiae* en el medio marino.

ALMACENAMIENTO DE LAS DIETAS

Las dietas con levadura protegida no presentaron desactivación por el almacenamiento a diferentes temperaturas (ambiente y 4°C) lo que difiere con lo reportado por Lewis (1990) y Espinoza (1992) al trabajar con *S. cerevisiae*, encontraron una desactivación de hasta un 50% del número inicial, lo que demuestra que la *S. cerevisiae* protegida puede ser utilizada más eficientemente para dietas.

III.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO PROBIOTICO

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar el efecto sobre el crecimiento, sobrevivencia y conversión alimenticia de *P. vannamei* alimentados con dietas formuladas con 0.1% de *S. cerevisiae* seca activa aglomerada (fina o gruesa).

Determinar el efecto probiótico de la levadura seca activa aglomerada (*S. cerevisiae*) en camarón por medio del conteo de la flora de bacterias heterotrofas totales, vibrios y cantidad de levaduras viables del tracto intestinal de los camarones.

MATERIAL Y METODO

AREAS DE TRABAJO

El trabajo se desarrollo en la FCB-UANL para las siguientes áreas: en el laboratorio de Maricultura, en donde se realizó el bioensayo con camarón, y en el Laboratorio de Microbiología Industrial y del Suelo "Dr. H.T. Dulmage", para el conteo de la flora en el tracto intestinal de los camarones.

DIETAS

Las dietas formuladas y peletizadas que se utilizaron para este bioensayo fueron las B y D, con 0.1% de levadura aglomerada fina o gruesa respectivamente y la dieta control, todas ellas fabricadas en NUTRIPAC.

La elección de estas dietas se debió a que:

- Se desea comparar el efecto de la levadura fina o gruesa a la misma dosis, ya que el tamizado aumenta el costo de la levadura fina y si no hay diferencia significativa entre los dos tipos de levadura con la TCA y crecimiento de los camarones del bioensayo, la dieta con levadura gruesa resulta ser la más rentable (Com. Pers. Dr. Francisco García, 1993).
- Además, el estudio de viabilidad, demostró la falta de un mejor resultado de NCTO o NCVB al aumentar la dosis de la levadura en las dietas, por lo que conviene utilizar la menor dosis de levadura (0.1%), con el fin de disminuir lo más posible el costo de las dietas.

La forma como fueron fabricadas las dietas peletizadas fue descrita anteriormente (ver pruebas de viabilidad de la levadura activa).

MATERIAS PRIMAS Y FORMULACION.

Las dietas que se fabricaron para esta investigación poseían ingredientes convencionales tales como harina de pescado, soya, trigo, camarón, aceite de pescado, lecitina de soya etc. y la levadura Biosaf (levadura aglomerada) de granulometría fina y gruesa.

Se formuló la dieta control en base a los requerimientos nutricionales de camarón (*P. vannamei*) en la talla utilizada según las recomendaciones de Tacon (1987), Akiyama D.M. (1988) y Cruz-Ricque (Com. Pers. 1992) (formulación con el programa MIXIT-2, 1992).

Al incluir la levadura en las dietas, no hubo modificaciones en la proporción de los otros ingredientes (ver tabla 16).

Tabla 16. Composición de las dietas experimentales con levadura Biosaf como probiótico (%).

DIETAS	A	B	C	D	E	F
INGREDIENTES VARIABLES (%)						
Biosaf	—	0.1	0.5	0.1	0.5	1.0
INGREDIENTES CONSTANTES (%)						
H. de pescado	33.8		H. de trigo		29.86	
H. de soya	0.05		A. de Pescado		1.15	
Compactante	0.8		H. de camarón		0.8	
Vitaminas	0.5		Metionina		0.5	
Lisina	0.5		Lecitina		0.5	
VitaminaC	0.05					

Nota. La fórmula del compactante industrial y de la mezcla vitamínica, están en el apéndice II y III, respectivamente

ANÁLISIS PROXIMAL DE MATERIAS PRIMAS Y DIETAS

El análisis proximal de los ingredientes de las dietas terminadas se llevó a cabo de acuerdo con las técnicas antes descritas (ver material y método en el uso de la levadura como fuente de proteína).

VIABILIDAD DEL ALIMENTO.

La estabilidad de las dietas A, B y D fueron determinadas en agua marina 35 ppt) a 30°C por una hora (ver resultados en las pruebas de viabilidad).

CONDICIONES EXPERIMENTALES

SALA DE BIOENSAYOS PARA CAMARON

Para evaluar el efecto biológico de la incorporación de levadura *S. cerevisiae* en dietas para camarón, se requirió de la sala de bioensayos, cuyas características fueron descritas anteriormente (ver uso de la levadura como fuente de proteína).

PARAMETROS FISICOQUIMICOS

Los parámetros fisicoquímicos que se determinaron en el agua fueron: temperatura y salinidad (diariamente) y oxígeno disuelto, pH, amonio, nitritos, nitratos (semanalmente). El flujo de agua y flujo de aire se igualaron en cada acuario al inicio del experimento. El amonio, los nitritos y los nitratos se determinaron mediante las pruebas colorimétricas de Aquarium System.

Los parámetros que se presentaron durante el experimento fueron los siguientes:

- 1) Temperatura: 26 a 30°C.
- 2) Salinidad: 34 a 36 ppt.
- 3) Oxígeno: 7 a 9 ppm.
- 4) pH: 8.2 a 8.7.
- 5) Amonio no disuelto: 0 a 0.1 ppm.
- 6) Nitritos: 0 a 0.2 ppm.
- 7) Nitratos: 10 a 20 ppm.
- 8) Flujo de agua: 0.36 l/min (9.6 recambios diarios)
- 9) Flujo de aire: 3.04 l/min.

ORGANISMOS

ORIGEN

Se utilizaron camarones *P. vannamei*, provenientes de la Sociedad Cooperativa "Acuacultores de la Península" de Baja California en La Paz, B.C.S. con un peso de 3 a 5 g; los camarones fueron trasladados a la Cd. de Monterrey (vía aérea), en bolsas de polietileno, con agua marina y oxígeno. Se eligió esta clase de talla para facilitar la disección del tubo digestivo al momento del muestreo para las pruebas microbiológicas.

DISTRIBUCION

Para el bioensayo se seleccionaron animales que pertenecían a la clase de talla de 3.5 a 4.25 g. Cada individuo fue pesado en una balanza digital (Ohaus E400D) antes de ser distribuido en una cubeta equipada con un difusor de aire.

Los organismos del rango de talla seleccionado, fueron pesados nuevamente y distribuidos al azar a una densidad de 5 organismos por acuario (replicado) y siete acuarios por dieta (tratamiento). Los tratamientos y sus siete replicados fueron distribuidos en siete bloques de tres acuarios c/u, en cada bloque existía un replicado del tratamiento, el orden del mismo dentro del bloque fue determinado al azar.

Al día siguiente, se reemplazaron los individuos que murieron a causa del estrés en el manejo y se inicio la alimentación con las dietas experimentales.

MANEJO DIARIO

Las camarones fueron alimentados y tratados de igual forma, como se explicó en el bioensayo I (ver uso de la levadura como fuente de proteína).

CONTEO DE MICROORGANISMOS EN EL TRACTO INTESTINAL

Las muestras del tracto intestinal fueron colectadas a los 30 min. de alimentar a los camarones con su respectiva dieta (Moriarty, 1972 y Anderson *et al.*, 1989).

El tracto intestinal anterior y posterior del camarón (sin hepatopáncreas) fue disectado con la ayuda de tijeras y pinzas, esterilizadas a la flama; para este propósito se cortó el cefalotorax del camarón, a la altura de las branquias, se seccionó el exoesqueleto y el músculo a lo largo del abdomen y con la ayuda de las pinzas se retiró el tracto intestinal.

Se preparó la muestra del tracto intestinal con la ayuda de un homogenizador tipo poter (teflon y vidrio) y se hicieron diluciones de la misma alícuota, las cuales fueron sembradas en los medios correspondientes a fin de conocer el número total de colonias de levaduras, vibrios y bacterias heterotrofas totales que existen.

Se realizaron cinco muestreos a lo largo del bioensayo, uno al inicio (semana 0) y uno más cada semana (4 semanas en total), a fin de conocer los cambios que presentaba la microflora con respecto a las dietas y al tiempo. Para detectar estos cambios se usaron los medios y métodos de cultivo para levadura, vibrios y bacterias heterotrofas totales. Los muestreos se realizaron de la siguiente forma:

Muestreo 0. Se colectaron 5 camarones del lote de base y a cada uno de ellos se les extrajo el intestino, se le determinó el contenido de levaduras, vibrios y bacterias heterotrofas totales, con el objetivo de detectar las variaciones individuales que presentan los camarones.

Muestreo 1. Se colectaron 3 camarones de cada dieta, se disectaron los intestinos y se hizo un "pool" con los tres intestinos de los camarones de cada dieta, determinándole a este pool el contenido de levaduras, vibrios y bacterias heterotrofas totales.

Muestreo 2. Se realizó de igual forma que el muestreo 1.

Muestreo 3. Se realizó de igual forma que el muestreo 1.

Muestreo 4. Se colectaron 5 camarones de cada dieta y a cada uno de ellos se le extrajo el intestino determinándole el contenido de levaduras, vibrios y bacterias heterotrofas totales, con el objetivo de detectar las variaciones individuales que presentaron los camarones dentro de cada grupo experimental, a fin de comparar estadísticamente los promedios entre grupos.

LEVADURAS

Se usó un medio selectivo para levaduras: Agar Malta (Merck) de pH 4.8 con Tetraciclina (2 mg/l). La muestra fue homogeneizada en una solución de NaCl 8.5 g/l estéril y diluida de 10 en 10 en tubos de ensayo. Dos alícuotas de 0.1 ml de las diluciones adecuadas fueron mezcladas con 20 ml de Agar Malta a 45°C en cajas de Petri y se incubaron las cajas por 48 hr a temperatura de 30-37°C.

VIBRIOS

Se uso un medio selectivo para vibrios: Agar TCBS (Kobayasih y Coll, 1963 en Prieur, D., 1980) de pH 8.8. La muestra fue homogeneizada en una solución de NaCl 8.5 g/l estéril y diluida de 10 en 10 en tubos de ensayo. Dos aliquotas de 0.1 ml de las diluciones adecuadas fueron mezcladas con 20 ml de agar TCBS a 37°C en cajas de Petri y se incubaron las cajas por 18-24 hr a temperatura de 30-37°C.

BACTERIAS HETEROTROFAS TOTALES

Se usó un agar para bacterias heterotrofas totales: Agar Marino de Zobell 2216E (Oppenheimer et Zobell, 1952 en Prieur, D., 1980). La muestra fue homogeneizada en una solución de NaCl 8.5 g/l estéril y diluida de 10 en 10 en tubos de ensayo. Dos aliquotas de 0.1 ml de las diluciones adecuadas fueron mezcladas con 20 ml de agar marino de Zobell a 45°C en cajas de Petri, y se incubaron las cajas por 48 hr a temperatura de 30-37°C.

* 4 g de Bacto pectona, 1 g de extracto de levadura, 250 ml de agua destilada y 750 ml de agua marina.

EVALUACION BIOLOGICA

La evaluación biológica se realizó de acuerdo con los parámetros descritos en el primer bioensayo (ver uso de la levadura como fuente de proteína).

ANALISIS ESTADISTICO

Se aplicó a los pesos individuales iniciales y finales un test de homogeneidad de varianza o test de Barlett, seguido de un análisis de varianza y un test de comparación de medias por el método de Duncan, para determinar las diferencias y/o semejanzas significativas. Además se realizó el mismo análisis estadístico a las tasas de crecimiento, sobrevivencia, conversión alimenticia y al consumo estimado por acuario.

Para el análisis estadístico de los microbiológicos, se utilizó el número de colonias por gramo de intestino que presento cada caja Petri, como un replicado; de cada tratamiento se obtuvo un número de resultados pertenecientes a los replicados y se les aplicó un análisis de varianza y una comparación de medias de acuerdo con los métodos anteriormente descritos.

Por otra parte, a partir de los resultados de los siete acuarios de cada dieta, se realizaron análisis de correlación entre los diferentes parámetros de crecimiento, consumo, sobrevivencia y conversión alimenticia.

Se utilizó una computadora PC y el programa SPSS.

FACTIBILIDAD ECONOMICA

Se determinó la relación costo-beneficio basándonos en las tasas de conversión alimenticia obtenidas en el bioensayo y en la cotización de los ingredientes de los alimentos.

RESULTADOS

ANÁLISIS PROXIMAL Y DE LIXIVIACION

El análisis proximal (ver tabla 17) nos muestra que las dietas A, B y D son casi isoproteicas con rango de 37.39 a 37.93%; el nivel de lípidos fue más dispar, presentándose un rango desde 4.5 a 6.1% (ver tabla 17 y figura 15). La dieta A contiene la mayor cantidad de proteína y lípidos y la menor cantidad de fibra.

Las pruebas de lixiviación en agua marina mostraron una falta de diferencia significativa en la pérdida de materia seca entre las dietas peletizadas. No obstante, las dietas B y D presentaron un valor ligeramente superior de PMS que la dieta A (5.29, 4.69 y 2.48% respectivamente)(ver pruebas de viabilidad).

Tabla 17. Análisis proximal de las dietas peletizadas y sus ingredientes (%).

DIETAS	HUM.	PROT.	LIP.	CEN.	FIBRA	ENER.	ELN
A (CONTROL)	7.29	37.93	6.19	12.80	1.71	3.43	34.08
B (0.1% FINA)	7.58	37.70	4.63	13.55	2.12	3.30	34.42
D (0.1% GRUESA)	6.84	37.39	5.92	13.51	2.38	3.38	33.96
INGREDIENTES							
Biosaf	5.28	41.70	0.49	3.80	0.31	---	48.42
H. de Pescado	5.51	42.16	5.25	13.78	2.44	---	30.87
H. de Trigo	9.51	10.60	0.95	8.82	0.31	---	69.81
H. de Soya	7.47	39.63	1.11	5.55	5.05	---	41.19
H. de Camarón	6.76	39.80	3.11	25.92	8.63	---	15.78

La energía está expresada en Kcal/g.

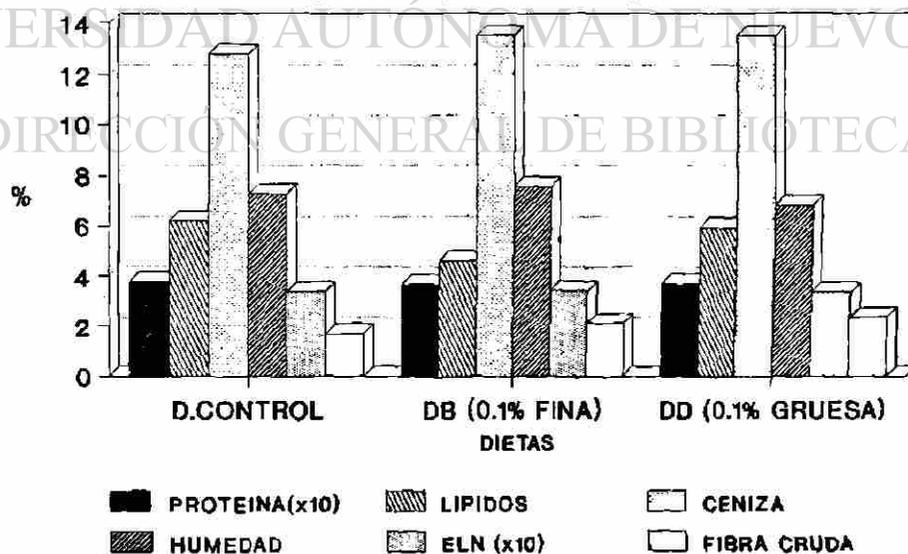


Figura 15. Análisis proximal de las dietas con la levadura Biosaf (*S. cerevisiae*) seca activa aglomerada, fina y gruesa (%).

PRUEBAS BIOLÓGICAS

La evaluación biológica se usó para demostrar la reproductibilidad de los replicados de un mismo tratamiento (dieta), se les realizó un análisis de varianza con los pesos individuales que presentaron sus replicados (acuarios) y se demostró que no hay diferencias significativas entre ellos, es decir que la media de los pesos que expone cada replicado es muy similar a los otros replicados de su tratamiento.

El análisis de varianza entre tratamientos (con los pesos individuales y/o peso medio del acuario), no demostró una diferencia significativa; sin embargo, la dieta que presentó la mejor tasa de crecimiento fue la dieta B (Biosaf fina al 0.1%); la dieta A (Dieta control) tuvo valores intermedios y muy cercanos al alimento D y la dieta D (Biosaf gruesa al 0.1%) por su parte, posee la peor tasa de crecimiento (ver tabla 18 y figura 16).

La sobrevivencia de los camarones fue mayor en la dieta D (86%), intermedia en la dieta B (77%) y la dieta A presentó la peor sobrevivencia (71%) (ver tabla 18 y figura 16).

El consumo de alimento fue mayor en los camarones alimentados con la dieta B que para la D; la dieta A por su parte, fue la que expuso el mayor consumo de alimento (ver tabla 18 y figura 16). Sin embargo, el análisis estadístico no señaló diferencias significativas entre los tratamientos.

La tasa de conversión alimenticia fue la única variable que presentó diferencias significativas entre los tratamientos, con un valor promedio significativamente menor en la dieta B.

Tabla 18. Resultados del uso de la levadura Biosaf como probiótico, para la alimentación de camarón blanco *P. vannamei* (promedios \pm EE).

DIETAS	A	B	D
Peso inicial prom (g)	3.78 \pm 0.3	3.80 \pm 0.3	3.79 \pm 0.3
Peso final prom. (g)	4.67 \pm 0.7b	5.02 \pm 0.8b	4.53 \pm 0.8b
Incremento (g)	0.89	1.22	0.74
Densidad inicial(g/m ²)	105	105.5	105.2
Densidad final (g/m ²)	88.88	106.9	108.9
T. de crecimiento (%)	23.54 \pm 8.1b	32.10 \pm 9.3b	19.52 \pm 11.1b
TC/TC de DB	100	128.31	86.6
No. inicial	35	35	35
No. final	25	27	30
Sobrevivencia (%)	71.42 \pm 15.7b	77.14 \pm 17.9	85.71 \pm 15.1b
Consumo (g)	11.28 \pm 1.0b	10.81 \pm 0.4b	10.35 \pm 0.7b
T.C.A.*	10.71 \pm 0.6b	7.93 \pm 0.4a	11.43 \pm 0.9b

Los valores con la letra "a" difieren significativamente ($P < 0.0$).

* Tasa de Conversión Alimenticia.

La dieta control presentó una correlación negativa ($P < 0.01$) entre la TCA y la sobrevivencia (-0.8651) y una positiva entre el consumo del alimento y el crecimiento (0.835); además, exhibió una correlación positiva ($P < 0.05$) de la TCA con el consumo y el crecimiento (0.6918 y 0.7373) y una negativa de la sobrevivencia con los mismos factores (consumo y crecimiento, -0.7142 y -0.7613)(ver análisis de correlación en el apéndice III).

La dieta B (0.1 % levadura Biosaf fina) mostró una correlación positiva entre la TCA y el consumo del alimento (1.0000) y una correlación negativa ($P < 0.05$) de la sobrevivencia con la TCA y el consumo (-0.6963 y -0.6962 respectivamente)(ver análisis de correlación en el apéndice III).

La dieta D (0.1 % levadura Biosaf gruesa) dio una correlación positiva entre la TCA y el consumo del alimento (0.9992), una correlación negativa ($P < 0.05$) de la sobrevivencia con la TCA y el consumo de alimento (-0.7946 y -0.7981, respectivamente) y una positiva del crecimiento con los mismos parámetros (0.7501 y 0.7492)(ver análisis de correlación en el apéndice III).

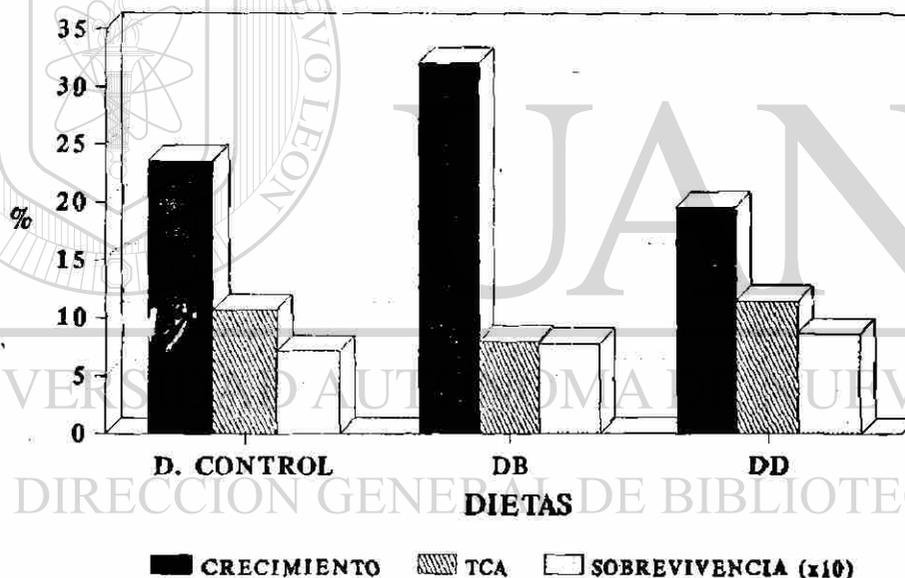


Figura 16. Sobrevivencia y Tasas de Conversión Alimenticia y Crecimiento de los camarones alimentados con las dietas peletizadas (28 días de bioensayo).

MICROBIOLOGICOS

Los camarones de la semana 0 presentaron una variación individual fuerte; esto se puede ver claramente en el medio de Zobel en donde la muestra dos presento hasta 10^7 colonias por gramo (ver figura 17); por otra parte los conteos obtenidos en los medios de malta y TCBS presentaron valores que fueron desde 0 hasta 10^5 y 10^6 respectivamente (ver tabla 19 y figura 18).

El peso de los intestinos disectados vario de 3.4 a 76.5 mg. Para poder comparar los resultados microbiológicos entre camarones individuales (semana 0 y 4) o en las dietas (semana 1, 2 y 3), los valores fueron expresados en microorganismos por gramo de intestino (ver tabla 19).

ZOBEL

Al estudiar el número de bacterias heterotrofas totales por gramo de intestino que presentaron los camarones alimentados con las dietas (A, B y D) durante el bioensayo, no hay una diferencia significativa entre ellas; solamente en la semana 3 y para la dieta A, existe un aumento del número de bacterias totales. Sin embargo, al estudiar los tratamientos individualmente a lo largo de bioensayo, solo la dieta B presenta una diferencia significativamente en la semana 1 (ver figura 19).

MALTA

Los camarones alimentados con las dietas peletizadas presentaron valores significativamente mayores (levaduras por gramo de intestino) durante la primera semana de bioensayo, sin embargo al compararse los tres grupos estudiados, no encuentran diferencias significativas (ver figura 20).

Tabla 19. Análisis microbiológicos de las dietas durante el bioensayo.

SEM	MEDIO	DIETAS			Prob.
0	ZOBEL	2.39 x 10 ⁷			0.0010
	MALTA	1.49 x 10 ⁵			0.0613
	TCBS	7.32 x 10 ⁶			—
		A	B	D	
1	ZOBEL	1.15 x 10 ⁷ _b	7.00 x 10 ⁷ _b	4.61 x 10 ⁶ _b	0.3272
	MALTA	8.62 x 10 ⁶ _b	8.26 x 10 ⁵ _b	4.33 x 10 ⁴ _b	0.2357
	TCBS	0.00	0.00	1.03 x 10 ⁶	—
2	ZOBEL	1.86 x 10 ⁴ _b	1.01 x 10 ⁴ _b	8.34 x 10 ³ _b	0.2054
	MALTA	4.09 x 10 ³ _b	4.09 x 10 ³ _b	1.60 x 10 ⁴ _b	0.0148
	TCBS	0.00	0.00	0.00	—
3	ZOBEL	6.70 x 10 ⁶ _a	1.54 x 10 ⁶ _{ab}	1.47 x 10 ⁵ _b	0.0000
	MALTA	0.00 _b	6.41 x 10 ³ _b	4.15 x 10 ³ _b	0.5913
	TCBS	4.84 x 10 ⁴	0.00	0.00	—
4	ZOBEL	1.19 x 10 ⁷	6.56 x 10 ⁶	4.91 x 10 ⁷	
	α	0.0042	0.0000	0.0000	
	MALTA	2.51 x 10 ⁴	2.64 x 10 ³	4.06 x 10 ³	
	α	0.8046	0.0695	0.5174	
	TCBS	1.08 x 10 ⁴	0.00	3.15 x 10 ⁶	

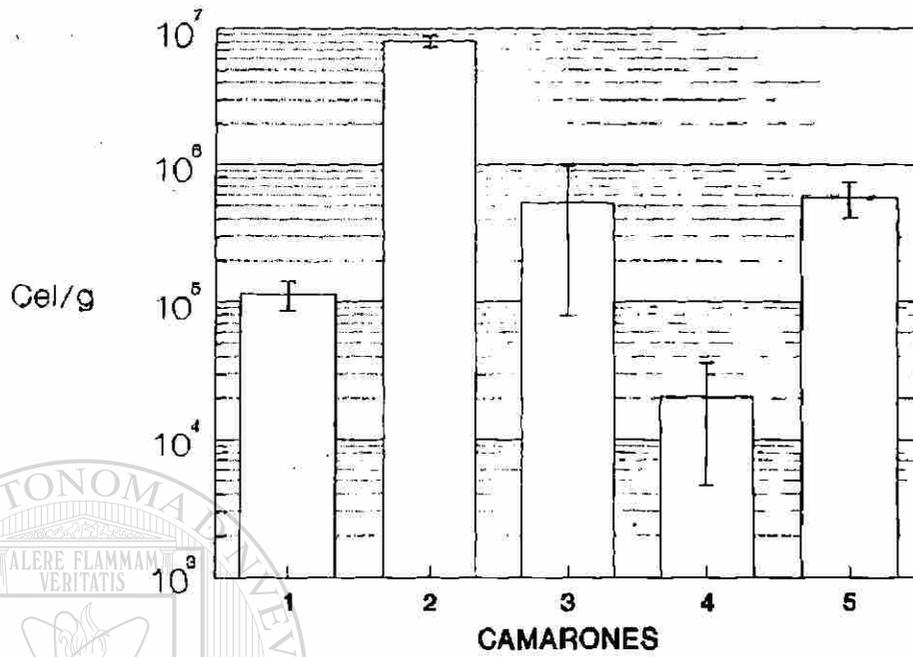


Figura 17. Cantidad de bacterias heterotrofas totales que presentaron los camarones al inicio del bioensayo.

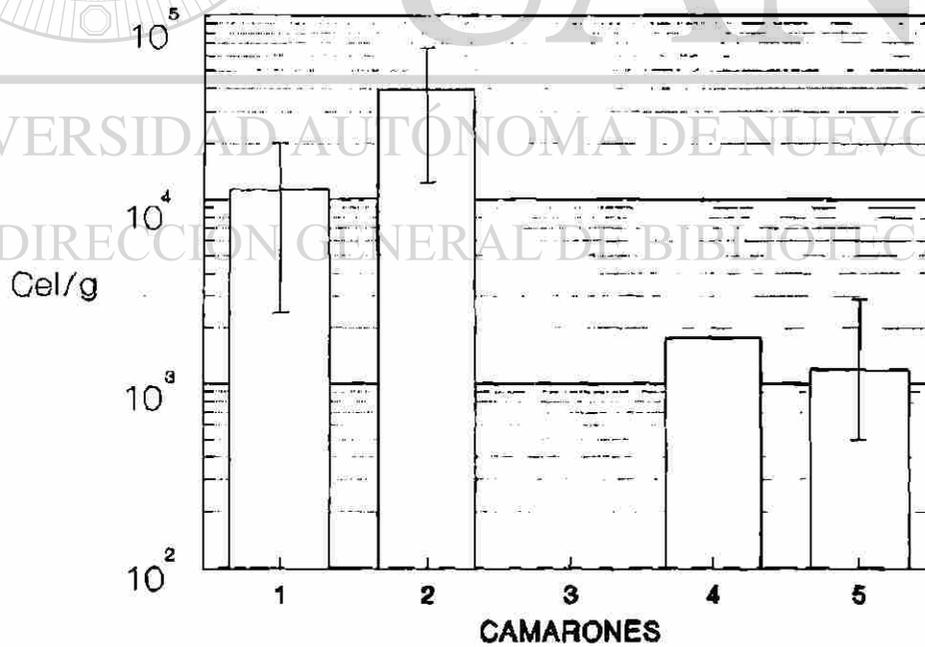


Figura 18. Cantidad de levaduras totales que presentaron los camarones al inicio del bioensayo.

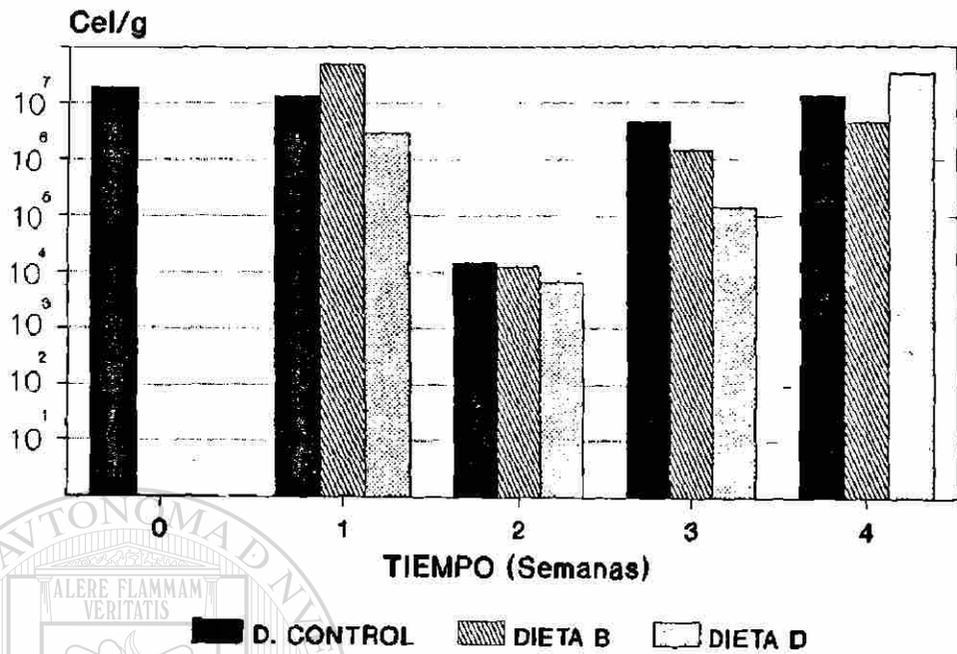


Figura 19. Cantidad de colonias de bacterias heterotrofas totales por gramo de intestino de los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.

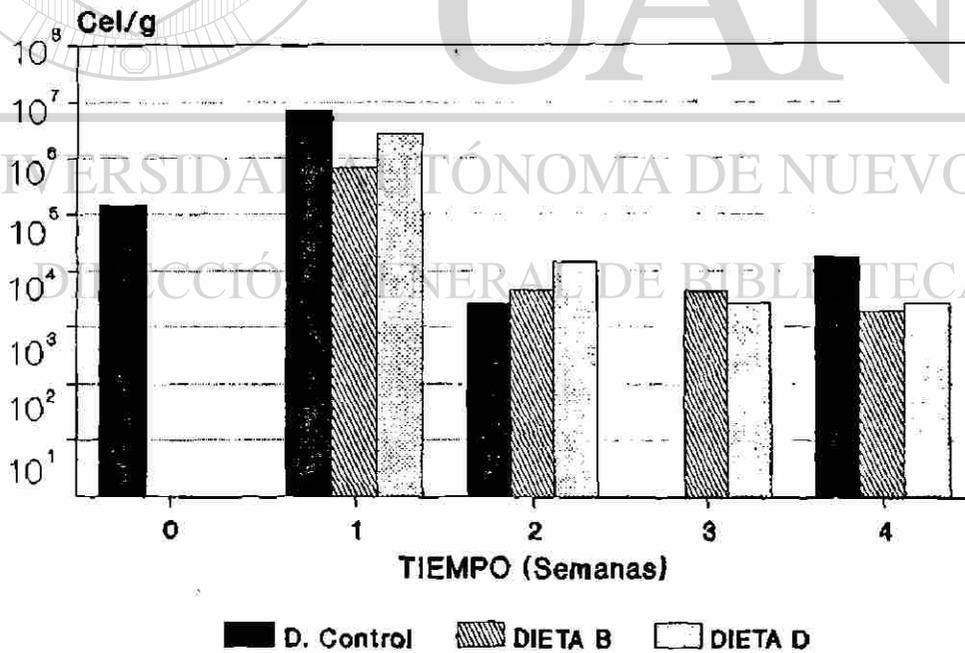


Figura 20. Cantidad de colonias de levadura por gramo de intestino de los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.

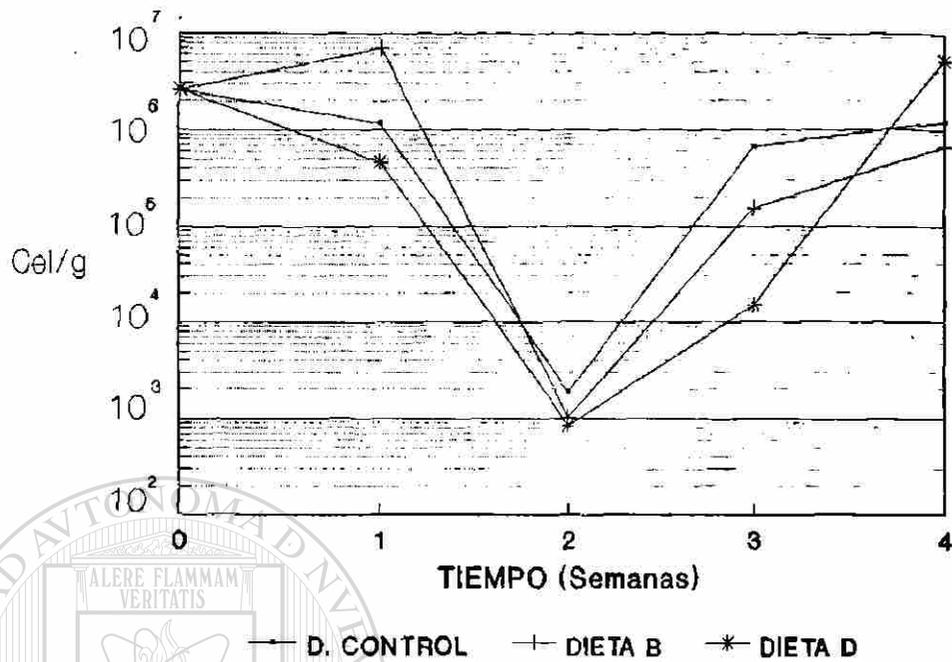


Figura 21. Cambios en la cantidad de bacterias heterotrofas totales por gramo de intestino en los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.

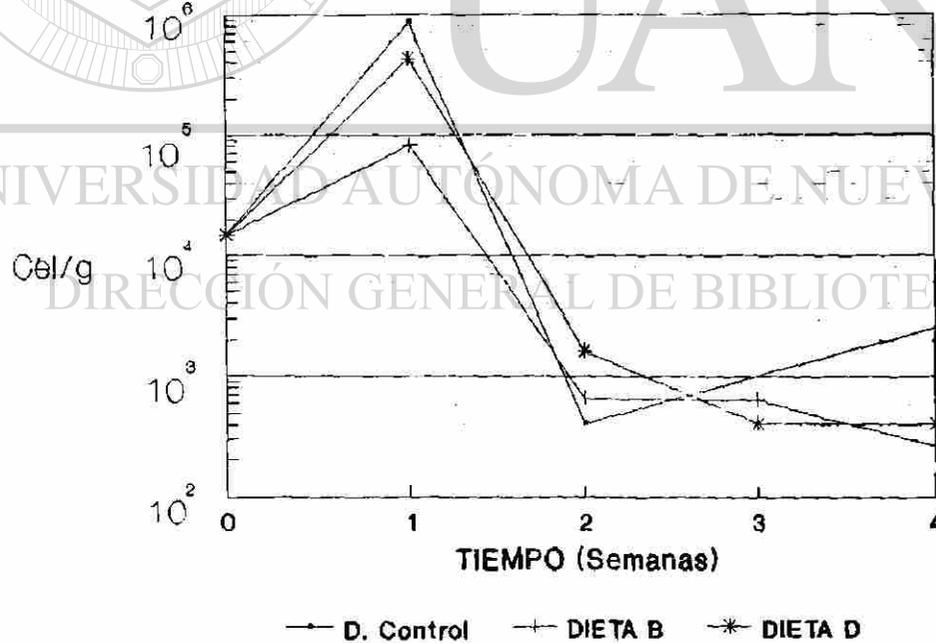


Figura 22. Cambios en la cantidad de levaduras por gramo de intestino en los camarones alimentados con las dietas peletizadas, durante el bioensayo.

DISCUSION

ANÁLISIS PROXIMAL, MEZCLADO Y COMPOSICION PRIMARIA DE LA MEZCLA

La variación observada en el análisis proximal de las dietas A, B y D (ver tabla 17) no pueden atribuirse a la adición de levadura, ya que un nivel de incorporación de 0.1%, no modifica el aporte nutricional a las dietas; esto es similar a lo reportado por Akiyama y Dominy (1989) quienes al aplicar un ingrediente en cantidades muy bajas no efectúan modificaciones en la fórmula original. Sin embargo estas variaciones en la composición de las dietas, no afectaron de manera significativa el aporte nutricional de estas a los camarones, ya que la dieta B, que tenía un poco menos de energía, fue la que dio el mejor crecimiento (ver tablas 17 y 18).

Estas variaciones en las dietas, pueden deberse a errores humanos durante la preparación de la mezcla de ingredientes que fueron peletizados, al mezclado insuficiente o deficiente por la capacidad del equipo, a muestreos no representativos de la mezcla o de las dietas y a errores en las técnicas del análisis proximal.

La mezcladora utilizada para la fabricación de las dietas peletizadas empleadas en esta investigación, fue una clásica mezcladora horizontal de tres toneladas. Con un lote de fabricación de tan solo 500 kg, la carga de la mezcladora fue de 1/6 de su capacidad; es por esto que inferimos que el mezclado de los ingredientes es el principal responsable por los diferentes valores en el análisis proximal. Al igual que nosotros Behnke (1991) considera que la mezcladora horizontal es de las mezcladoras más utilizadas por los fabricantes de dietas y presentan deficiencias en su mezclado al no ser cargadas con su capacidad máxima.

Los errores humanos en la preparación de la mezcla de ingredientes, los muestreos poco representativos y los errores en las técnicas del análisis proximal, posiblemente puedan afectar el resultado del análisis proximal, sin embargo estos tres puntos fueron verificados por la misma persona y consideramos que tienen escaso efecto en las variaciones presentes en las dietas.

CRECIMIENTO

La dieta con levadura Biosaf fina presentó el mejor resultado, con una T.C., significativamente superior al de las dietas A y D. Sin embargo el crecimiento fue globalmente muy bajo si lo comparamos con lo que se espera en estanques rústicos.

Tacon (1987); Villalon (1991) y Zendejas (1991) consideran que el crecimiento de los camarones durante un cultivo, se ve influenciado tanto por factores extrínsecos (calidad de alimentación que presentaron en los estadios tempranos de desarrollo, competencia por espacio y alimento, etc) como por factores intrínsecos (estado de salud, factores genéticos, etc). Este crecimiento normal de los camarones durante su cultivo puede expresarse con la clásica campana de Gaus;

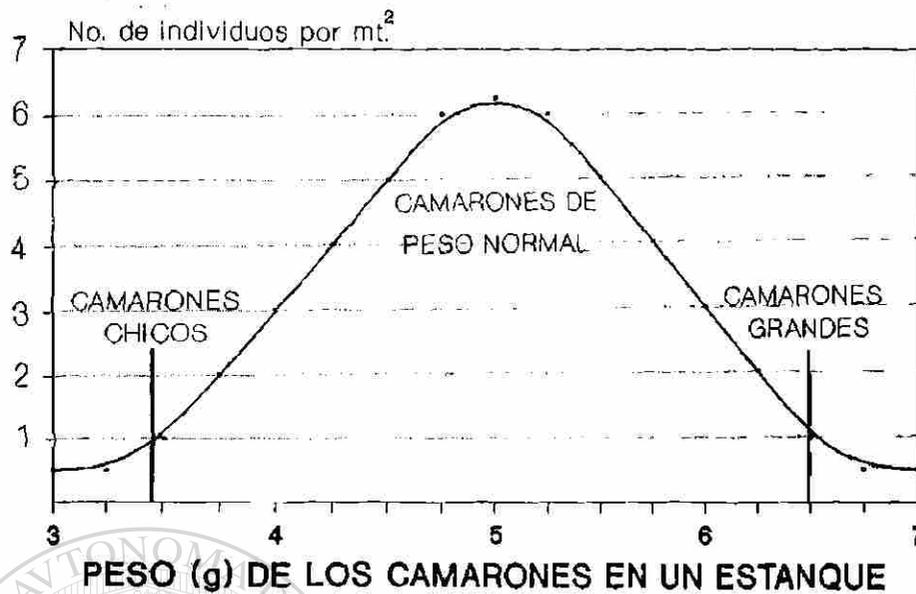


Figura 23. Distribución de pesos (g) en un estanque de cultivo de camarón.

la cual nos revela, que generalmente existen pocos camarones con un peso grande, pocos con un peso pequeño y una gran cantidad de camarones con un peso intermedio. Por desgracia, los camarones pequeños, llamados cola de lote, aunque se les cambie un lugar en donde las condiciones les sean más favorables, no alcanzan la talla de los normales y su talla seguirá siempre pequeña.

Los camarones que se utilizaron en este bioensayo representaban la talla pequeña que poseía el estanque; este tipo de camarones como se explicó anteriormente, al utilizarse en experimentos sufren de bajo crecimiento, aunque las condiciones les favorezcan.

Este podría ser el principal factor, por lo malos resultados de crecimiento y TCA que fueron obtenidos en la presente investigación.

CONSUMO DE ALIMENTO Y TASA DE CONVERSION ALIMENTICIA

El consumo de alimento se calculó en base a la cantidad de alimento distribuido en el tanque menos la cantidad de restos alimenticios del mismo. A los 28 días de experimentación, se estimó una tasa de consumo diaria promedio de 9.5, 8.7 y 8.8% (con respecto al peso individual) para las dietas A, B y D respectivamente. Tacon (1987), Villalon (1991) y Zendejas (1991) al manejar estanques de cultivo semiintensivo e intensivos reportan valores de consumo de alimento muy inferiores a los encontrados en esta investigación.

El consumo de alimento influencia directamente la TCA (ver fórmula en metodología del uso de la levadura como fuente de proteína). Por este motivo el análisis estadístico muestra una correlación entre el consumo y la TCA, ya que el valor de TCA deriva del consumo.

La dieta A y D presentaron correlaciones positivas entre consumo y

crecimiento es decir que entre mayor fue el consumo de alimento más crecieron los camarones, sin embargo la dieta B no presenta ninguna relación.

El consumo por su parte esta negativamente correlacionado con la sobrevivencia es decir que entre menos animales hay en el estanque, mayor es el consumo de alimento, esto se debe a que existe una ración alimenticia mucho más alta por camarón, esta relación se presentó en todas las dietas (Ver análisis de correlación en el apéndice).

La dieta B (0.1% Biosaf fina) presento una T.C.A. significativamente menor que las dietas A y D. Es interesante recordar que justamente esta dieta no presento una correlación significativa entre consumo y crecimiento entre los diferentes replicados, es decir que la mejora en crecimiento tiene que ser por otra razón, posiblemente a la acción de la levadura por ejemplo, efecto sobre la digestibilidad, gracias a la acción de las enzimas. De hecho se observo un desarrollo microbiano precoz en el alimento. El alimento, al permanecer más de un día en el agua formaba burbujas, debido a la fermentación del alimento en el fondo del acuario.

MICROBIOLÓGICOS

Los estudios microbiológico revelaron que los camarones, aunque provenían del mismo lote y fueron tratados y alimentados de la misma forma, tenían variaciones individuales significativas (ver figura 17 y 18). Una manera de eliminar estas diferencias individuales al realizar este tipo de estudios, es el trabajar con una muestra de varios individuos (pool) a fin de que las diferencias sean debido al estudio y no a las variaciones individuales en los camarones (Yasuda y Kitao 1980, Roques y Dussert, 1991, Espinoza, 1992).

De acuerdo con Gatesoupe *et al* (1989 al 1991), Conway *et al* (1990), Garza en Avila *et al* (1990), Hoyos (1990) y Dale (1992) conforme se alimentan los camarones con una dieta que tienen bacterias o levaduras activas (probiótico) y al paso del tiempo, el probiótico estará presente en el tracto intestinal de los camarones y el número de bacterias heterotrofas totales y vibrios disminuirán. Sin embargo, el análisis estadístico fue incapaz de señalar una correlación inversa o directa entre el número de levaduras y bacterias heterotrofas totales que presento el tracto intestinal de los camarones (ver figuras 21 y 22).

El porque la levadura no permanece en el tracto intestinal de los camarones puede deberse a los siguientes factores: al sufrir una desactivación causada por la peletización, la levadura es incapaz de reproducirse en el tracto intestinal, aunque este activa; Hood y Meyers (1973), Lewis (1990), Ricque *et al* (1990), Roques y Dussert (1991) y Espinoza (1992) reportan que se levadura se desactivo a causa del proceso en la fabricación del alimento. Otro factor es el reportado por Conway *et al* (1990), Wasterdahl *et al* (1991) y Christer *et al* (1992) en el cual el tiempo tan corto que pasa el alimento en el tracto intestinal del camarón impide la fijación de la levadura al mismo. Otro factor es el tiempo que pasa desde que se alimento el camarón hasta la toma de muestra del tracto intestinal (30 min. en la presente investigación); Moriarty, (1972) y Anderson *et al*, (1989) aseguran que el momento para tomar las muestras es durante la primera hora después de que el camarón se

alimento; sin embargo, Conway *et al.*, (1990); Wasterdahl *et al.*, (1991) y Christer *et al.*, (1992) han trabajado con *S. maximus* y *L. limanda*, y reportan que es mejor tomar las muestras después de varias horas de alimentarseles, pero ellos también nos indican que la fijación y el número de bacterias disminuye conforme pasa el tiempo. Otro factor estriba en el hecho que, debido a su tamaño, la levadura puede ser utilizada como alimento y las enzimas del hepatopáncreas la digieren total o parcialmente, de ser así la cantidad suministrada en el alimento llegaría a ser muy inferior a la requerida para que se fije al tracto intestinal; Hood y Meyers, (1973) le dan a este punto, una gran fuerza ya que lo han considerado como uno de los factores por el cual sus bacterias (*Bacillus firmus* y *Beneckeia neptuna*) no se fijaron al intestino de camarones (*P. setiferus*).

De acuerdo con lo que esperábamos, la levadura *S. cerevisiae* debería fijarse al tracto intestinal de los camarones (Hoyos, 1990b) y al competir por espacio con bacterias patógenas traería como consecuencia un aumento de crecimiento en los camarones. Sin embargo la levadura no sobrevivió mucho al proceso de peletizado, además de estar ya presente en forma natural en el tracto intestinal, por lo que el aumento del crecimiento de los camarones no fue debido a la fijación de la levadura al tracto intestinal, sino a los otros beneficios que tienen los probióticos, como metabolitos que ayudan a la digestión y/o asimilación de los nutrientes, etc. (Conway, P. *et al.*, 1991; Dale, N, 1992; Apligen, 1993 y Fox S, 1993).

En los últimos dos años se han incrementado los trabajos concernientes al uso de bacterias y sobre todo al uso de levaduras en alimentación de organismos acuáticos (peces, anguilas, crustáceos etc). Algunos autores (Conway *et al.*, 1990; Hoyos, 1990; García, F. Com. Pers, 1992 etc) y algunas compañías privadas (SAFMEX, APLIGEN, TOROAX, DIAMOND etc) consideran que el factor más importante involucrado con el uso de levadura y/o bacteria como probiótico es la capacidad que poseen algunas cepas para contribuir a la digestión de los nutrientes que hay en el tracto intestinal.

Es importante calcular la cantidad de levaduras que suministra el alimento y compararlo con las levaduras presentes en el tracto intestinal. El alimento presentó un número de levaduras de 2×10^5 (dieta B) a 10^4 (dieta D), el alimento lixiviado durante 1 hr y a 35 ppt presentó un conteo de levaduras de 5×10^4 a 2×10^4 . El aporte en levadura viva que suministro la dieta a los camarones fue comparable al conteo microbiológico del tracto intestinal, por lo anterior consideramos que hubo poco cambio en la flora bacteriana.

CONCLUSION

I.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO FUENTE DE PROTEINA

La levadura *S. cerevisiae* inactiva es una buena fuente de proteína y puede ser utilizada en altas concentraciones (15 y 30% en la fórmula) en dietas comerciales para camarón, sin ocasionar problemas de palatabilidad. Su uso siempre será factible económicamente, cuando su precio sea menor o igual al precio que posea la harina de pescado.

La mala estabilidad obtenida en las dietas con levadura *S. exiguus* se debe principalmente a un problema técnico al momento de fabricar las dietas, ya que el exceso de humedad que poseían estas dietas impidió la buena compactación de las mismas.

II.- PRUEBAS DE VIABILIDAD DE LA LEVADURA ACTIVA

La falta de congruencia de los conteos con las dosis, así como la variabilidad importante entre conteos replicados, dejan sospechar un error importante en los resultados de viabilidad, del orden de un factor 10.

La diferencia en células viables a favor de las dietas peletizadas con la levadura Biosaf fina puede ser considerada como significativa, ya que alcanza un factor 10.

El proceso de peletización a escala comercial tuvo una sobrevivencias de 100% en células totales, un 1% en células viables de la levadura fina, y un 0.1% en células viables de la levadura gruesa, resultando en conteos de 10^7 , 10^5 y 10^4 Cél/g en los alimentos terminados, sin importar la dosis (0.1, 0.5 y 1 %).

El proceso de extrusión húmeda resultó mucho más drástico que previsto, con un factor de inactivación del orden de 10^6 , y conteos finales en 10^2 células totales y 10^1 células viables por gramo de alimento.

La lixiviación tuvo un efecto ligero sobre la viabilidad de las levaduras, con un factor de inactivación del orden de 10, no importa cual sea la salinidad ni la duración (1 o 2 horas) del contacto con el agua marina.

El conjunto de resultados en dietas peletizadas y extruidas no permite demostrar una gran ventaja en resistencia de la levadura Biosaf sobre la Procreatin-7, al contrario.

III.- EVALUACION DE LA LEVADURA COMO PROBIOTICO

La levadura *S. cerevisiae* activa aglomerada fina usada a bajas concentraciones (0.1%), disminuye significativamente la TCA (26% menos con respecto al control), justificando su uso como probiótico.

La mejora en crecimiento y tasa de conversión alimenticia, obtenido por los camarones que fueron alimentados con dietas con levadura activa aglomerada, no se debió a la fijación de la levadura al tracto intestinal de los camarones, si no probablemente a los otros benéficos que poseen los probióticos (aumento de la digestibilidad y asimilación de nutrientes).

RECOMENDACIONES

Al fabricar una nueva dieta o al utilizar una ya existente, se debe verificar la buena estabilidad de la misma, antes de ser empleada en los camarones.

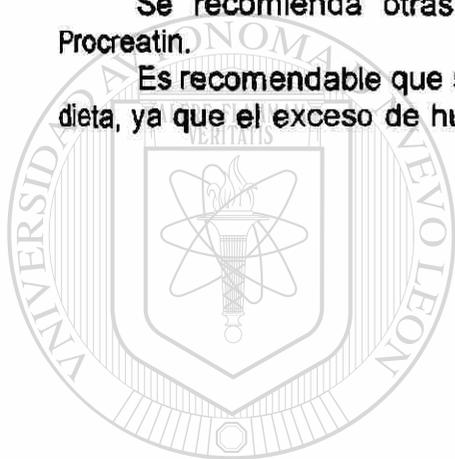
Al fabricar una dieta en una peletizadora industrial se debe aplicar un marcador, a fin de verificar el correcto mezclado de los macro y microingredientes.

Los camarones utilizados en los bioensayos deben pertenecer la lote normal del estanque y nunca a los lotes de los extremos de la campana de Gaus.

Los camarones que se utilicen en un bioensayos en donde se estudiará la tasa de crecimiento, conversión alimenticia y sobrevivencia, deberán tener un peso inferior a los 500 mg a fin de obtener los mejores resultados y cuando se trabaje con el tracto intestinal es preferible trabajar con camarones de más de 1g a fin de extraerles el tracto intestinal sin muchos problemas.

Se recomienda otras pruebas de viabilidad tomando como testigo a Procreatin.

Es recomendable que se utilice *S. exiguus* secas al momento de extruir una dieta, ya que el exceso de humedad repercute en la estabilidad de las dietas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LITERATURA CONSULTADA

- Akiyama D.M.** 1988. Soybean Meal Utilization by Marine Shrimp. American Soybean Association. E.U.A. 1-21.
- Akiyama D.M. y W.G. Dominy.** 1989. Penaeid Shrimp Nutrition for the Commercial Feed Industry. American Soybean Association. E.U.A. Vol 3: (18), 7-8.
- A.O.A.C.** 1980. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington. D.C. 30-120
- Anderson, I.G., Shamsudin, M.N. y Nash, G.** 1989. A Preliminary Study on the Aerobic Heterotrophic Bacterial Flora in Gigant Freshwater Prawn, *macrobranchium rosenbergii*, Hatcheries in Malaysia. *Aquaculture*. 81: 213-223.
- Apligen.** 1993. Uso de Probióticos en Aves. Boletín Informativo Apligen. México, D.F. 1-7.
- Appelbaum.** 1979. The Suitability of Alkan-yeast (Hydrocarbon Grown Yeast) as a First Nutrient of *Coregonus albula* (L) Fry in Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Ed. Heeneman Verlag. Berlin. Vol. I: 515-524.
- Aquacop.** 1978. Study on Nutritional Requirements and Growth of *Penaeus merguensis* in Tanks by Means of Purified and Artificial Diets. Proceedings World Mariculture Society. Vol 9: 225-234.
- Atack y Matty.** 1979. The Evaluation of Some Single Cell Proteins in the Diet of Rainbow Trout in Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. Ed. Heeneman Verlag. Berlin. Vol. I: 261-273.
- Avila G., Ernesto, S. Shimada, Armando y Llamas L., Gerardo.** 1990. Anabólicos y Aditivos en la Producción Pecuaria. Ed. Sistema de Educación Continua en Producción Animal en México A.C. Primera Edición. México D.F. 117-129.
- Balazs G., F. Ross y C. Books.** 1973. Preliminary Studies on the Preparation y Feeding of Crustacean Diets. *Aquaculture*. Vol. 2: 369-377.
- Behnke, K.C., Fahrenholz, C. y Dominy, W.G.** 1991. Mixing and Mixers for the Aquaculture Industry in Proceeding of the Aquaculture Fed Processing and Nutrition Workshope. American Soybean Association. E.U.A. 158-178.
- Christer O., Wasterdahl, A., Conway, P.L. y Kjelleberg, S.** 1992. Intestinal Potential of Turbot (*Scophthalmus maximus*) and Dab (*Limanda limanda*) Associated Bacterial with Inhibitor Effects against *Vibrio anguillarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 58 (1), 551-556.
- Convin, P.M.** 1976. Protein Requirements in Compounded Diets for Juvenile *Penaeus indicus*. *Aquaculture*. Vol 7: 315-326.
- Colvin, L. B. y C.W. Brand.** 1977. The Protein Requirement of Penaeid Shrimp at Various Life-Cycle Stages in Controlled Environment Systems. Proceedings World Mariculture Society. Vol 8: 821-840.
- Conway, C. B. y J. R. M. Forster.** 1971. The Essential Amino Acid Requirements of Prawn *Palaemon serratus*. *Marine Biology*. Vol 10: 77-81.

- Conway, P.** 1990. Effect of Probiotic Administration and Dietary Composition on Gastrointestinal Microflora of Turbot. Annual Report 1990/91. University of Göteborg. Sweden. 1-8.
- Crueger, W., Crueger, A.** 1984. Biotechnology: a Textbook of Microbiology Industry. Ed. Brock, T. D., Science Tech. Inc. Madison. 308-315.
- Cruz-Ricque, L.E.** 1987. Recherches Sur la Nature et le Mode d'Action d'un "Facteur de Croissance" Extrait du Calamar, dans la Nutrition des Crevettes Peneides (Crustacea Decapode). Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale. 125-140
- Dale, N.** 1992. Probióticos y Enzimas para Avez. Asociación Americana de Soya. México, D.F. (106). 1-3.
- Dall W. y D.J. Moriarty.** 1973. Functional Aspect of Nutrition and Digestion in the Biology of Crustacea in Internal Anatomy and Physiological Regulation. Ed. Academic Press. New York, New York. Vol V: 215-289.
- Deshimaru O. y Shigueno K.** 1972. Introduction to the Artificial Diet for Prawn *Penaeus japonicus*. Aquaculture. Vol 7: 115-133.
- Deshimaru O. y K. Kuroki.** 1974. Studies on a Purified Diet for Prawn-I. Diet. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol 40: (4) 413-419.
- Deshimaru, O. y Y. Yone.** 1978a. Requirement of Prawn for Dietary Minerals. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol 44: 907-910.
- Deshimaru, O. y Y. Yone.** 1978b. Optimum Level of Dietary Protein for Prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vo. 44: 1395-1397.
- Deshimaru O.** 1981. Protein and Amino Acid Nutrition of the Prawn *Penaeus japonicus*. Second International Conference of Aquaculture Nutrition. 106-123.
- Diamond V.** 1991. El porque Diamond V es Unico. Boletín informativo Diamond. 1-12
-
- Diario Oficial de la Ciudad de México,** Editado el 28 de Diciembre de 1989. México, D.F.
- Egidus, E.** 1972. On the Internal Bacterial Flora of the European Lobster (*Homarus vulgaris* L.) and its Susceptibility of Gaffkaemia. Aquaculture. 193-197.
- Espinoza R., Patricia,** 1992. Evaluación Nutricional de *Saccharomyces cerevisiae* en Dietas Balanceadas para el Camarón Blanco del Pacífico *Penaeus vannamei* Boone (Decapodo-Penaeid). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. México. 1-50.
- Fair, P. H., A.R. Fortner, M.R. Millikin y L.V. Sick.** 1980. Effects of Dietary Fiber on Growth, Assimilation and Cellulose Activity of the Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Proceedings World Mariculture Society. Vol 11: 359-381.
- Fenucci J.L., Lawrence A.D. y Zein-Eldin Z.P.** 1981. The Effects of Fatty Acid and Shrimp Meal Composition of Prepared Diets on Growth of Juvenile Shrimp, *Penaeus stylirostris*. Proceedings World Mariculture Society. Vol 10: 115-128.
- Forrellat, A., R. González y O. Carrillo.** 1988. Evaluación de la Calidad Proteica de Alimentos para Camarones. Investigaciones Marinas. Vol IX: (1). 71-79.

- Forster, J. R. M.** 1976. Studies of the Envelopment of Compounded Diets for Prawns. First International Conference on Aquaculture Nutrition. University of Delaware, New York, New York. 229-248.
- Fox, Steven.** 1993. Historia de los Probióticos, los Microorganismos Amigos Ganan Mercado. Nuestro Acontecer Porcino. Vol. 1: (3). 26-36.
- Gallagher, M. L.** 1976. The Nutritional Requirements of Juvenile Lobsters, *Homarus americanus* Ph. D. Thesis. University of California. 18-86.
- Gatesoupe, F. J. y Arakawa, T.** 1989. The Effect of Additives on the Production Rate and Dietary Value of Rotifers as Food for Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture. Vol 83: 39-44.
- Gatesoupe, F. J.** 1990. The Continuous Feeding of Turbot Larvae *Scophthalmus maximus* and Control of the Bacterial Environment of Rotifers. Aquaculture. Vol 86: 139-148.
- Gatesoupe, F. J.** 1991. The Effect of Three Strains of Lactic Bacteria on the Production Rate of Rotifers, *Brachionus plicatilis*, and Their Dietary Value for Larval Turbot, *Scophthalmus maximus*. Aquaculture. Vol. 96: 335-342.
- Gatesoupe, F. J.** 1991. The Use of Probiotics in Fish Hatcheries: Results and Prospect. Mariculture Coittee. 1-6.
- Gatesoupe, F. J.** 1991. *Bacillus* sp. Spores: A New Tool Against Early Bacterial Infection in Turbot Larvae, *Scophthalmus maximus*. European Aquaculture Society. Special Publication. (15). 409-411.
- Gatesoupe, F. J.** 1991. Elevage Larvaire du Turbot: Les Probiotiques a la Rescousse. Aqua. Reveu. (48). 25-28.
- Gelabert, R.** 1988. Alimentación de Larvas de Camarón *Penaeus schimitti* con Alimentación Artificial. Investigaciones Marinas. Vol IX: (2). 1-50
- Gelabert, R., E. Alfonso, O. Hernandez y S. Leal.** 1988. Experiencias de Alimentación de Larvas de Camarón *Penaeus schimitti* con Levaduras Obtenidas Industrialmente. Investigaciones Marinas. Vol IX: (1). 59-69.
- Hew M.** 1983. Contribution to the Study of Growth of the Shrimp, *Penaeus japonicus* Beta, by Artificial Feeding. These Doctorale de L' Universite de Bretagne Occidentale. France. 11-26.
- Hood M.A. y S.P. Meyers.** 1973. Microbial Aspects of Penaeid Shrimp Digestion. Proc. Annu. Gulf Caribb Fish. Inst. Vol 26: 81-92.
- Hoyos, G.** 1990a. Uso de Lactobacilus en Vacas Lecheras in Biotecnología en la Industria de Alimentación Animal. Ed. Apligen. Vol 1: 12-25
- Hoyos, G.** 1990b. Uso de Lactobacilus en Ccerdos Recien Destetadoos in Biotecnología en la Industria de Alimentación Animal. Ed. Apligen. Vol 1: 26-31.
- Hoyos, G.** 1990c. Dietas con Probióticos para Lechones in Biotecnología en la Industria de Alimentación Animal. Ed. Apligen. Vol 1: 32-40.
- Kanazawa, A. y S. Teshima.** 1977. Biosynthesis of Fatty Acids from Acetate in the Prawn *Penaeus japonicus*. Memories of the Faculty of Fisheries. Kagoshima University. Japan. Vol. 26: 49-53.

- Kanazawa, A.; S. Teshima; M. Endo y M. Kayama.** 1978. Effect of Eicosapentaenoic Acid on Growth and Fatty Acid Composition of the Prawn, *Penaeus japonicus*. Memories of the Faculty of Fisheries. Kagoshima University. Japan. Vol 27: 35-40.
- Kanazawa, A. y S. Teshima.** 1981. Essential Amino Acids of the Prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol 37: 1375-1377.
- Kanazawa, A.** 1981. Penaeid Nutrition. Second International Conference on Aquaculture Nutrition. University of Delaware. 87-105.
- Kihlberg, R.** 1972. The Microbe as Source of Food. Annual Review of Microbiology. Vol 26: 1-18.
- Kong Jung, C. y W.G. Co.** 1988. Prawn Culture: Scientific and Practical a Roach. Westpoint Corporation. 323-240
- Lewis, Michael J.** 1990. Perspectives on the Measurement and Survival of Yeast Culture in Feed. Biotechnology in the Feed Industry. Proceeding of Alltec's Seventh Annual Symposium, Washington, D.C. 88-94
- Martínez Vega, J. Arturo.** 1991. Evaluación de Dos Subproductos de Camarón en Forma de Harina como Fuente Proteínica en Dietas Balanceadas para *Penaeus vannamei*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México. 1-50.
- Meng, Hew.** 1983. Contribution the Study of Growth of the Shrimp *Penaeus japonicus* Beta by Artificial Feeding. Universite de Bretagne Occidentales. France. 13-19
- Moriarty, D.J.W.** 1972. Quantitive Studies on Bacterial and Algae in the Food of the Mullet *Mugil cephalus* L. and the Prawn *Metapenaeus bennettiae* (Recek & Dall). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol 22: 131-143.
- New, M.B.** 1976. A Review of Shrimp and Prawn Nutrition. Proceedings World Mariculture Society. Vol 7: 277-287.
- New, M.B.** 1987. Feed and Feeding of Fish and Shrimp. A Manual on the Preparation and Presentation of Compound Feeds for Shrimp and Fish Aquaculture. Ed. FAO. (26). 275-278.
- Nicolas, J.L., Robic, E. y Ansquer, D.** 1989. Bacterial Flora Associated with a Tropical Chain Consisting of Microalgae, Rotifers and Torbot Larvae: Influence of Bacterial on Larval Survival. Aquaculture. Vol 83. 236-248.
- Nose.** 1979. Determination of Nutritive Value of Food Protein in Fish. III. Bull freshwater Res. Lab. Tokyo. Vol 24: (2). 101-110.
- Palacios Cortez, L.L.,** 1993. Aspectos de la Fermentación de *Bacillus thuringiensis* var aizawai a Nivel de Planta Piloto. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. 1-76.
- Prieur, D.** 1980. Etude Qualitive et Quantitative des Counautés Bactériennes Associées aux Bivalves Marins: Comparaisons avec les Microflores de l'eau et de Sediment. Bacteriologie Marine. Marseille 1982. 161-167.
- Polanco, J.E. et al** (17 autores). 1987. Pesquerías Mexicanas. Secretaria de Pesca, 1ª Edición. México D.F. 1-186.

- Ramírez, D. y G.C. Leonel.** 1987. Manual de Análisis de Alimentos. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. México. Vol I. 1-32.
- Ricque D., Cruz E. y Espinoza P.** 1990. Evaluación Nutricional de la Levadura *Saccharomyces cerevisiae* Producida por SAFMEX, como Promotor de Crecimiento en la Alimentación del Camarón *Penaeus vannamei*. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. México. (Inedita).
- Romero A., M.R.** 1993. Efectos de las Variables de Temperatura, Salinidad, Formulación y Tipo de Aglutinante Sobre la Estabilidad de Alimentos Peletizados para Camarón. World Aquaculture Society, Puerto Rico.
- Roques C. y Dussert L.** 1991. The Interest of Live Yeast Supplementation in Aquaculture and its Providing Effects on Feed Conversion. European Aquaculture Society. Special Publication. (14). 37-45.
- Rose, A.H.** 1979. History and Scientific Basic of Large Scale Production of Microbial Biomass. Economic Microbiology. Vol 4: 1-29.
- Rosenberry, B.** 1989. A Bimonthly Report on Shrimp and Prawn Farming. Aquaculture Digest. Vol 14: 25-30.
- Rosenberry, B.** 1990. World Shrimp Farming 1989. Aquaculture Digest. Vol 10: 28-31.
- Rosenberry, B.** 1992. Shrim Farming Around the Word. Aquaculture Digest. Vol 17: (11). 17-24.
- Rosenberry, B.** 1992. Production Drops in 1992. Aquaculture Digest. Vol 1: 1-15.
- Rychen, G. y Simões N.C.** 1989. Effects of Microbial Probiotics on Blood Biochemical Parameters in the Pig. Société Chimique Roche. 197-211.
- Sanchez y Muñiz, F.J.; de la Higuera, M.; Mataix, F.J. y Varela, G.** 1979. The Yeast *Hansenula anomala* as a Protein Source for Rainbow Trout. (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol. Vol 63: 153-157.
- Sanchez y Muñiz, F.H.; De La Higuera, M. y Varela, G.** 1982. Alterations of Erythrocytes of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) by the Use of *Hansenula anomala* Yeast as Sole Protein Source. Comp. Biochem. Physiol. Vol 75: 693-696.
- Sanchez y Muñiz, F.H.; De La Higuera, M.; Muñoz-Martínez, E. y Varela, G.** 1983. Influence of Alterations of *Hansenula anomala* Yeast Intake on the Liver and Kidney Metabolism of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol. Vol 75: 609-613.
- Sepesca.** 1987. Programa Nacional para Cultivo de Camarón. 1-38.
- Sick, L.V., J.W. Andrews y D.B. White.** 1972. Preliminary Studies of Selected Environmental and Nutritional Requirements for the Culture of Penaeid Shrimp. Fishery Bulletin. Vol 70: (1). 101-109.
- Tacon, A.G.J. y Cooke, D.J.** 1980. Nutrition Value of Dietary Nucleic Acid to Trout. Nutr. Rep. Ubt. Vol 22: (5). 631-640.

- Tacon, A.G.J. y Jackson, A.J.** 1985. Utilization of Conventional and Unconventional Protein Sources in Practical Fish Feeds in Nutrition and feeding in fish. Ed FAO. 1-189
- Tacon, A.** 1987. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. A training Manual 1. The Essential Nutrients. Ed. FAO. 117.-130
- Varela, G., Mataix, F.J. y Navarro, M.P.** 1976. Estudio del Valor Nutritivo de la Proteína de Levadura *Hansenula anamala* Crecida Sobre Etanol de Síntesis. Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Vol 16: (2). 256-272.
- Venkatarameiah, A., G.J. Lakhimi y Gunter.** 1975. Effect of Protein Level and Vegetable Matter on Growth and Food Conversion Efficiency of Brown Shrimp. Aquaculture. Vol 6: 15-125.
- Villalon, José R.** 1991. Practical Manual for Semi-intensive Commercial Production of Marine Shrimp. Institutional Grant to Texas A&M University Sea Grant Collage Program. Texas. E.U.A. 70-90.
- Wasterdahl, A.; Christer O.,J.; Kjelleberg, S. y Conway, P.L.** 1991. Isolation and Characterization of Turbot (*Scophthalmus maximus*)-Associated Bacterial with Inhibitor Effects Against *Vibrio anguillarum*. Applied and Environmental Microbiology Vol 57: (8). 2223-2228.
- Watanabe, T., T. Tamiwa, A. O M. Hirata, CH. Kitajima y Sh. Fujita.** 1982. Improvement of Dietary Value of Live Foods for Fish Larvae by Feeding them on w3 Highly Unsaturate Fatty Acid and Fat-soluble Vitamins. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. Vol 49:(3). 471-479.
- Yasuda K. y Kitao, T.** 1980. Bacterial Flora in the Digestive Tract of Prawns, *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture. Vol 19: 229-234.
- Zandee, D. I.** 1966. Metabolism in the Crayfish, *Astacus astacus* L. 1. Biosynthesis of aminoacids. Archives Internationals de Physiologies et de Biochimie. Vol 74: 35-44.

Zendejas H., Jesús. 1991. Alimentos para Camarón y Sistemas de Alimentación. Taller Sobre Cultivo de Camarón. Mazatlán, Sinaloa. México. 1-45.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APENDICE I

Composición de la solución mineral en el medio de cultivo para *S. exiguus*.

NH ₄ Cl	2.5 g/l
KH ₂ PO ₄	2.5 "
MgSO ₄	1.2 "

Tabla 20. Composición del Líquido de Remojo de Malz (Palacios, 1993).

MACROINGREDIENTES (% p/v)					
Nitrógeno Total	4.0	Ceniza	1.2	Totales	51.0
Ac. Láctico	15.01	Azú. Reductor	5.6	Azú. Reductor Des. de Hidrólisis	6.8
MICROINGREDIENTES (%)					
Alanina	25	Valina	3.5	Hierro	0.01-0.3
Potasio	20.0	Fenilalanina	2.0	Calcio	0.01-0.03
Arginina	8	Fósforo	1-5	Cromo	0.001-0.003
Ac. Glutámico	8	Cisteína	1.0	Plata	0.001-0.003
Leucina	6	Metionina	1.0	Plomo	0.001-0.003
Prolina	5	Sodio	0.3-1	Magnesio	0.003-0.3
Isoleucina	3.5	Cobre	0.01-0.3	Zinc	0.003-0.08
Treonina	3.5				
Vitaminas B (µg g ⁻¹)					
Aurelina	41-49	Rivoflavina	3.9-4.7	Ac. Fólico	0.26-0.6
Biotinas	0.34-0.38	Pantotenato de Calcio	14.5-21-5	Nicotinamida	30-40

ANÁLISIS ESTADÍSTICO (Palacios, 1993)

Análisis de regresión de la variable de agitación (RPM) en función Yx/s (coeficiente de rendimiento celular en base al sustrato).

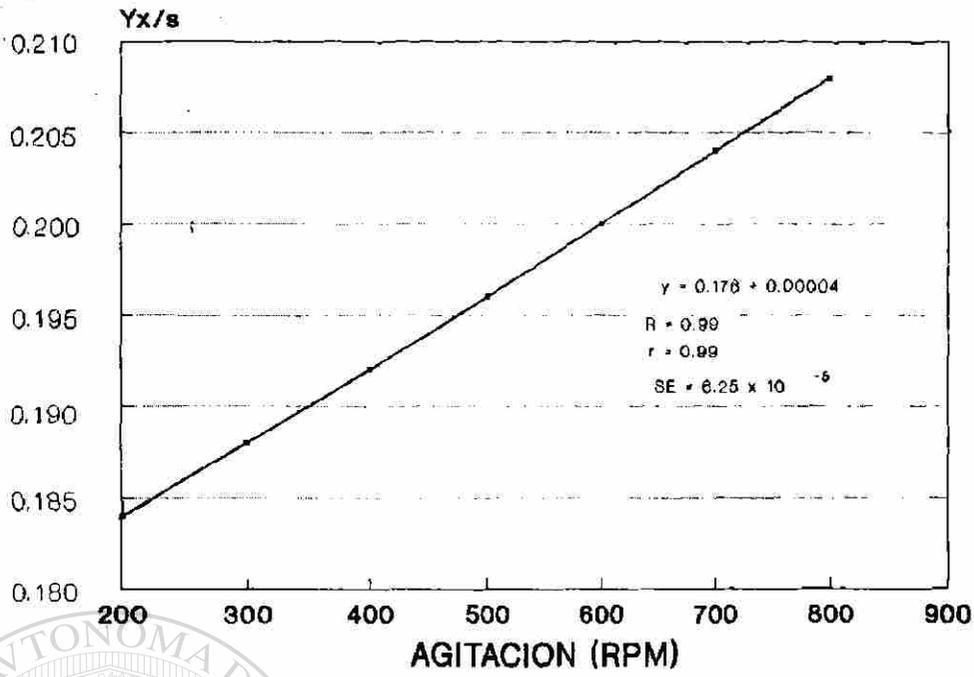
RPM	Y cal (Yx/s)
200	0.184
300	0.188
400	0.192
500	0.196
600	0.200
700	0.204
800	0.208

Valor en negrillas es el escogido para la fermentación

Análisis de regresión de la variable de aereación (VVM) en función Yx/s.

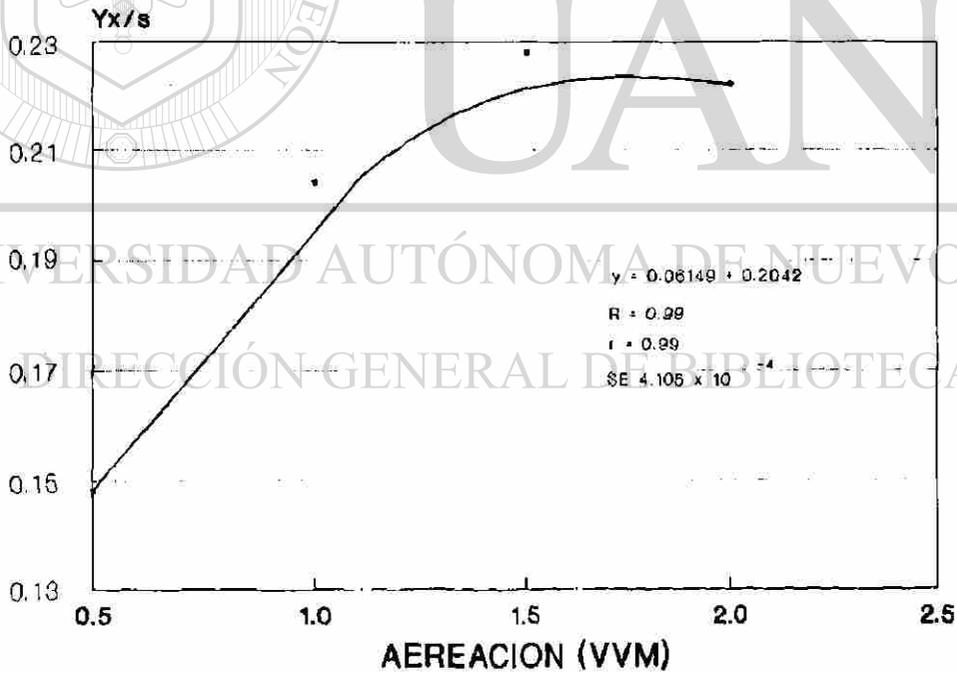
VVM	Y cal (Yx/s)
0.5	0.148
1.0	0.204
1.5	0.228
2.0	0.222

Valor en negrillas es el escogido para la fermentación



Yx/s (g de células/g de sustrato)
RPM (Revoluciones por minuto)

Figura 24. Efecto de la velocidad de agitación (RPM) sobre el coeficiente de rendimiento celular (Yx/s) de *S. exiguus*.



Yx/s (g de células/g de sustrato)
VVM (vol. de aire por vol. de medio/min)

Figura 25. Efecto de la cantidad de aire (VVM) sobre el coeficiente de rendimiento celular (Yx/s) de *S. exiguus*.

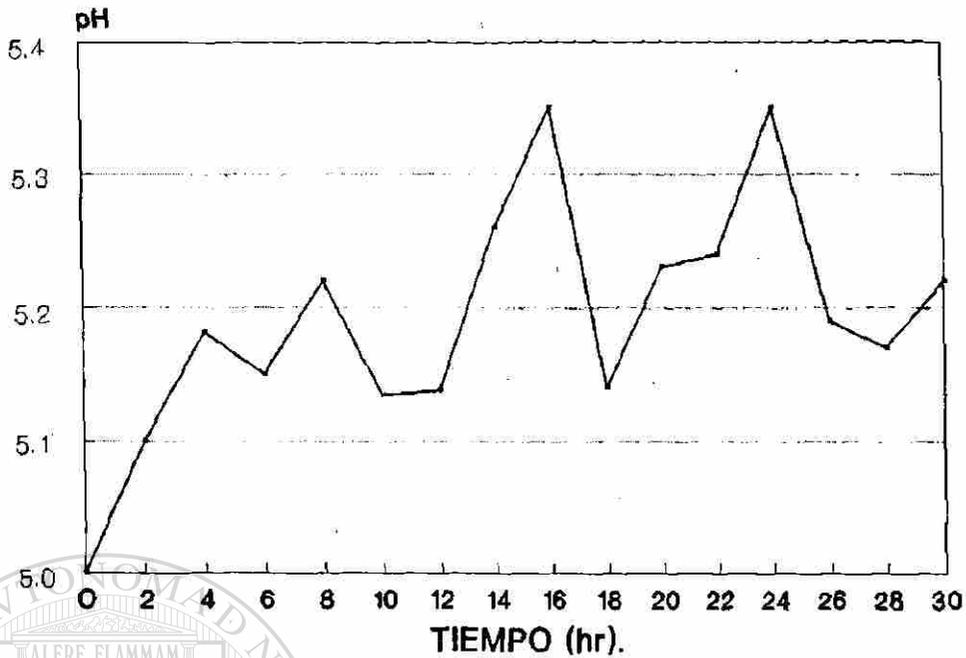


Figura 26. Variaciones del pH durante la fermentación de *S. exiguus*.

Mezcla vitamínica DE LAS DIETAS I a V . La mezcla vitamínica es de la marca OVNI de Omnitrition International, Inc. E.U.A.

Carbohidratos	12	g	Sodio	25	mg
Potasio	250	mg	Vitamina A	100	mg
Vitamina C	200	mg	Tiamina (B ₁)	100	mg
Rivoflavina (B ₂)	100	mg	Niacina	100	mg
Calcio	10	mg	Vitamina D	50	mg
Vitamina E	100	mg	Vitamina B ₆	100	mg
Vitamina B ₁₂	100	mg	Magnesio	10	mg
Zinc	100	mg	Cobre	25	mg
Biotina	50	mg	Ac. Pantotenico	100	mg
Manganeso	0.5	mg	Selenio	50	mg
Cloro	50	mg			

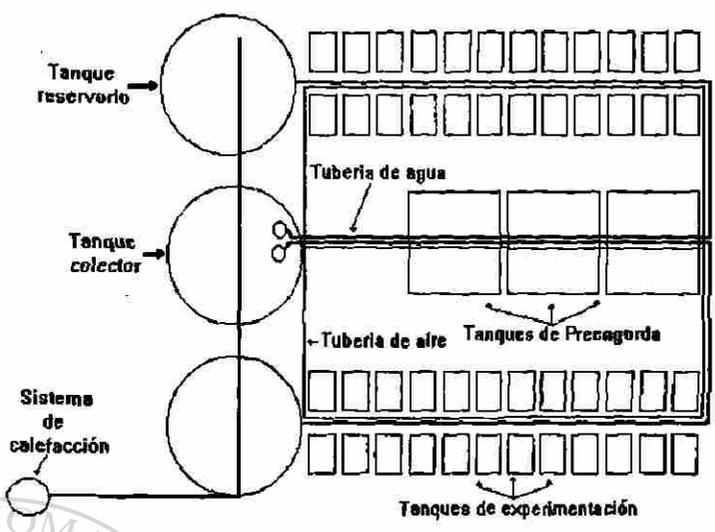


Figura 27. Vista superior de la sala de bioensayos.

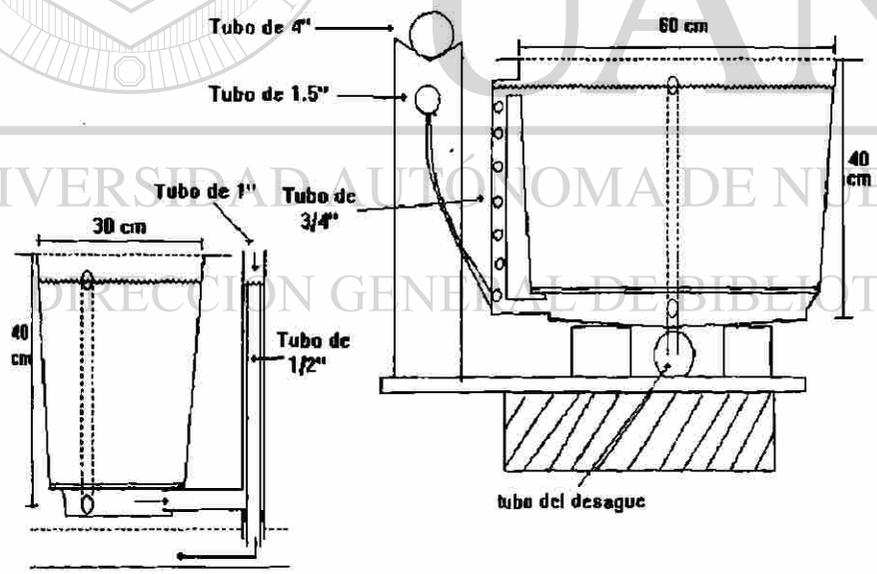


Figura 28. Estructura de los tanques de experimentación de la sala de bioensayo.

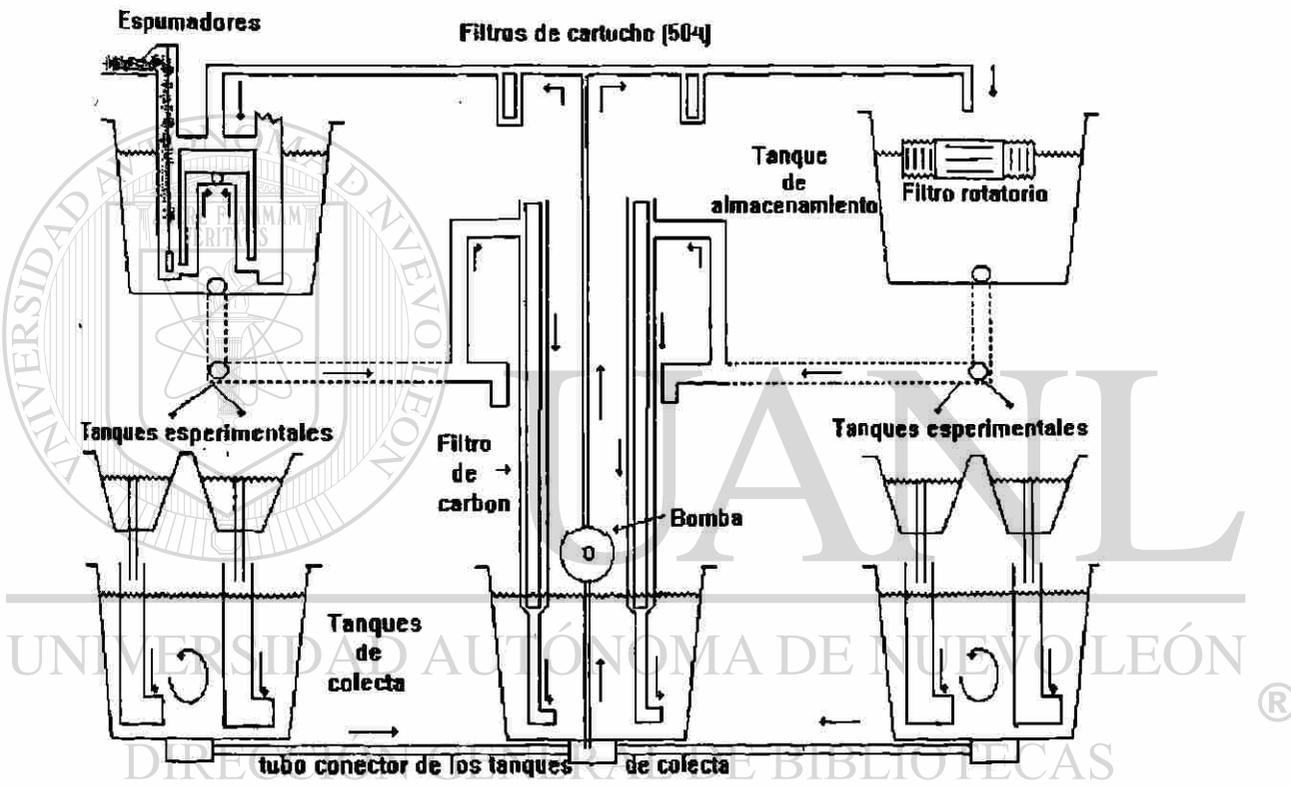


Figura 29. Sistema de recirculación del agua en la sala de bioensayos.

APENDICE II

Tabla 21. Viabilidad de las levadura BIOSAF en dietas peletizadas.

DIETA	NCTO	NCVB	DIETA	NCTO	NCVB	DIETA	NCTO	NCVB
A	0.0	0.0 0.1×10^1 0.3×10^1						
Prom.	0.0	0.2×10^1						
B	5.6×10^7 1.6×10^7	3.2×10^6 1.2×10^6 1.2×10^5	C	7.50×10^7 1.27×10^7	2.4×10^6 1.4×10^6 1.2×10^5			
Prom.	3.6×10^7	1.9×10^6	Prom.	4.3×10^7	1.7×10^6			
D	6.02×10^7 1.5×10^7	1.06×10^4 1.8×10^4 4.08×10^4	E	8.70×10^7 6.7×10^7	1.3×10^4 1.2×10^4 2×10^4	F	1.29×10^7 7.9×10^7	1.14×10^4 1.1×10^4 4×10^4
Prom.	3.7×10^7	2.3×10^4	Prom.	7.70×10^7	1.5×10^4	Prom.	4.5×10^7	2.08×10^4

Tabla 22. Viabilidad de la levadura BIOSAF en las premezclas de las dietas extruidas.

LEVADURA	DIETA	NCTO	NCVB	DIETA	NCTO	NCVB
—	1	0.0	0.1×10^1			
FINA	2	3.3×10^8	7.9×10^7	3	7.3×10^8	6×10^7
MEDIA	4	4.2×10^8	1.1×10^7	5	7.9×10^8	2×10^7
GRUESA	6	1.1×10^8	1×10^7	7	6.4×10^8	4×10^7

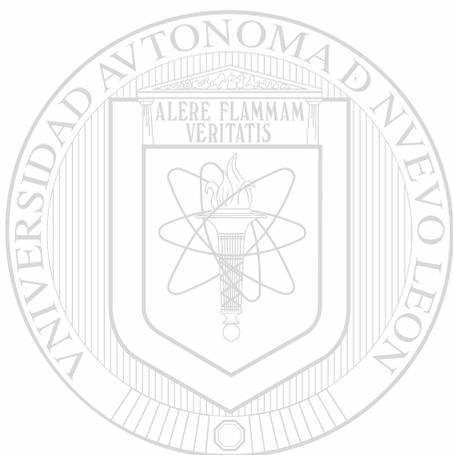
Tabla 23. Viabilidad de las levadura BIOSAF en dietas extruidas.

LEVADURA	DIETA	NCTO	NCVB	DIETA	NCTO	NCVB
—	1	0.0	0.0 0.1×10^1			
FINA	2	1.25×10^2	6.8×10^1 7.8×10^1	3	8.5×10^2	3×10^1 1.2×10^1
MEDIA	4	3.8×10^2	1.3×10^1 1.2×10^1	5	4.9×10^2	1×10^1 1×10^1
GRUESA	6	3.9×10^2	1.1×10^1 1.2×10^1	7	8.2×10^2	3×10^1 3×10^1

Tabla 24. Lixiviación de las dietas peletizadas con levadura BIOSAF fina.

Horas	SAL	DIETA	HUM	PMS	DIETA	HUM	PMS
1	5	B	44.15	17.71	C	46.02	15.17
2			45.31	24.60		48.93	27.82
1	35	B	49.90	5.31	C	50.93	6.69
2			50.12	11.01		49.98	14.75
1	65	B	51.12	3.81	C	52.15	2.85
2			53.50	8.90		53.55	5.44

Nota: La salinidad (SAL) está basada en ppm y la humedad (HUM) y la pérdida de materia seca (PMS) están basados en %.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

APENDICE III

MEZCLA VITAMINICA USADA EN LAS DIETAS PELETIZADAS

Vitamina A	6'000,000	U.I.	Niacina	15,000	g
Vitamina D3	3'000,000	U.I.	Riviflavina	4,000	g
Vitamina E	4,000	U.I.	D-Pantotenato de calcio	3,000	g
Vitamina K	1,500	U.I.	Vitamina B ₁₂	6	g
Cloruro de colina	100,000	mg	Antioxidante	140,000	g
Excipiente c.b.p.	2,000	mg			

COMPACTANTE DE ALIMENTOS BALANCEADOS (CP 1000-C).

Urea U.S.P.	40	%
Polimetilcradanida	10.6	%
Silprec	9.3	%
Vehículo	40.1	%

ANALISIS ESTADISTICOS DE CORRELACION

PROCESS IF (DIETA EQ 1).

CORRELATIONS /VARIABLES TCA COMSU SOBRE CRE WITH TCA COMSU
SOBRE CRE /OPTIONS /STATISTICS all.

Variable	Cases	Mean	Std Dev
TCA	7	10.7185	0.6053
COMSU	7	9.7885	1.0282
SOBRE	7	68.5714	15.7359
CRE	7	26.1910	8.1276

Correlations:	TCA	COMSU	SOBRE	CRE
TCA	1.0000	0.6918	-.8651	.7373
	(7)	(7)	(7)	(7)
	P= .000	P= .043	P= .006	P= .029
COMSU	.6918	1.0000	-.7142	.8350
	(7)	(7)	(7)	(7)
	P= .043	P= .000	P= .036	P= .010
SOBRE	-.8651	-.7142	1.0000	-.7613
	(7)	(7)	(7)	(7)
	P= .006	P= .036	P= .000	P= .023
CRE	.7373	.8350	-.7613	1.0000
	(7)	(7)	(7)	(7)
	P= .029	P= .010	P= .023	P= .000

(Coefficient / (Cases) / 1-tailed Significance). " ." is printed if a coefficient cannot be computed

**PROCESS IF (DIETA EQ 2).
CORRELATIONS /VARIABLES TCA COMSU SOBRE CRE WITH TCA COMSU
SOBRE CRE /OPTIONS 1/STATISTICS all.**

Variable	Cases	Mean	Std Dev
TCA	7	7.9320	.4011
COMSU	7	9.6374	.4873
SOBRE	7	77.1429	17.9947
CRE	7	32.7299	9.3323

Correlations:	TCA	COMSU	SOBRE	CRE
TCA	1.0000 (7) P= .000	1.0000 (7) P= .000	-.6963 (7) P= .041	.4482 (7) P= .157
COMSU	1.0000 (7) P= .000	1.0000 (7) P= .000	-.6962 (7) P= .041	.4482 (7) P= .157
SOBRE	-.6963 (7) P= .041	-.6962 (7) P= .041	1.0000 (7) P= .000	-.2032 (7) P= .331
CRE	.4482 (7) P= .157	.4482 (7) P= .157	-.2032 (7) P= .331	1.0000 (7) P= .000

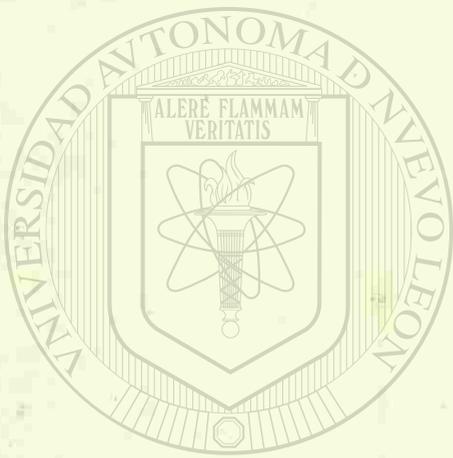
(Coefficient / (Cases) / 1-tailed Significance). " ." is printed if a coefficient cannot be computed

**PROCESS IF (DIETA EQ 3).
CORRELATIONS /VARIABLES TCA COMSU SOBRE CRE WITH TCA COMSU
SOBRE CRE /OPTIONS 1/STATISTICS all.**

Variable	Cases	Mean	Std Dev
TCA	7	11.4507	.9035
COMSU	7	9.2183	.7187
SOBRE	7	85.7143	15.1186
CRE	7	22.2979	11.1679

Correlations:	TCA	COMSU	SOBRE	CRE
TCA	1.0000 (7) P= .000	.9992 (7) P= .000	-.7946 (7) P= .016	.7501 (7) P= .026
COMSU	.9992 (7) P= .000	1.0000 (7) P= .000	-.7981 (7) P= .016	.7492 (7) P= .026
SOBRE	-.7946 (7) P= .016	-.7981 (7) P= .016	1.0000 (7) P= .000	-.3429 (7) P= .226
CRE	.7501 (7) P= .026	.7492 (7) P= .026	-.3429 (7) P= .226	1.0000 (7) P= .000

(Coefficient / (Cases) / 1-tailed Significance). " ." is printed if a coefficient cannot be computed



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®