

SECRETARÍA NACIONAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR, CIENCIA TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

PROYECTO PROMETEO

FORMATO DE PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

Nombres del Investigador (a) / Asesor (a)	María José	Apellidos del Investigador (a) / Asesor (a)	Sánchez-Muros Lozano		
Área de investigación	Fomento Agropecuario				
Título de PhD.	Ciencias Biológicas	Universidad que otorgo el doctorado	Granada (España)		
Institución de acogida (PRINCIPAL) – Ciudad de localización	Universidad Técnica de Machala – Machala	Nombre de la contraparte en la institución de acogida	Favián Maza		
Institución de Educación Superior de acogida (COMPLEMENTARIA) – Ciudad de localización		Nombre de la contraparte en la institución de acogida			
Nombre de la investigación con la que el Investigador (a) / Asesor (a) contribuye	Evaluación nutritiva de fuentes alternativas a la harina de pescado para la alimentación de camarón marino				
Objetivo general de la investigación	Conocer el potencial nutritivo de fuentes alternativas propias de la zona a la harina de pescado y determinar su nivel de inclusión en piensos para camarón marino .				
Fecha de inicio de actividades	1 periodo 15/01/2014 2 periodo 26/05/2014	Fecha final de actividades	1 periodo 04/04/2014 2 periodo 02/10/2014		
Total meses de vinculación	2 periodos, 7 meses,				
Número de vinculación	Primera	(x)	Postulación	Individual	(x)
	Segunda	()		Institucional	()

Perfil de Investigador (a) / Asesor (a)

Brevemente en 100 palabras detalle su trayectoria profesional, incluyendo los aspectos más relevantes de la misma.

Obtuve el doctorado por la universidad de Granada en 1990. He sido profesora titular de la Universidad de Granada y de Almería puesto que ocupo actualmente. He participado en 14 proyectos de investigación y varios contratos con empresas. Soy autora de 24 trabajos publicados en revistas recogidas en el JCR y socia fundadora de una empresa de base tecnológica. He colaborado en varios cursos y participado en 48 congresos. He dirigido 22 proyectos fin de carrera, una tesina de grado y una tesis doctoral. Toda la investigación se ha centrado en el campo de la acuicultura

- De forma concisa y en no más de dos mil (2.000) palabras, por favor especifique los siguientes elementos de su propuesta de investigación:

1. Pregunta de investigación, así como su delimitación espacial, temporal.

La harina de pescado es un recurso limitante en el desarrollo de la acuicultura y existe un creciente interés mundial por encontrar fuentes alternativas que permitan su sustitución en piensos tanto para peces como camarones. En este proyecto se pretenden estudiar el potencial nutritivo y el nivel de sustitución de la harina de pescado por diferentes fuentes, tales como subproductos de la destilería o de origen animal, así como también la harina de moringa o de insectos.

Los objetivos concretos del proyecto son:

conocimiento del valor nutritivo de diferentes subproductos y/o fuentes alternativas para su utilización en la preparación de dietas balanceadas para camarón y diseño de una fórmula balanceada para camarón con un porcentaje de sustitución de la harina de pescado por una fuente alternativa que permita crecimiento similares a los elaborados con harina de pescado

Para ello el proyecto se desarrollara en La Universidad técnica de Machala en las siguientes fases:

1º estancia: organizar el proyecto decidir las fuentes y tomar muestras dejar protocolos para questa a quinto. periodo 02/12/2013-23/12/2013

2º estancia: analisis de las muestras, puesta a punto de actividad enzimas digestivos y digestibilidad in vitro. 03/02/2014-02/03/2014

3º estancia analisis de digestibilidad y protesas y puesta a punto de inhibidores de proteasas. 01/04/2014-31/04/2014

4º estancia : formulacion y cofeccion de los piensos, preparacion e inicio del experimento con camarones. 02/06/2014-01/08/2014

5º muesteo final, analisis de las muestras discusion de resultados y preparacion de trabajo. 03/09/2014-02/11/2014

2. En esta parte señale claramente cuál será la contribución de la investigación en el área del conocimiento respectiva.

El objetivo de este proyecto es estudiar posible fuentes de proteína como alternativa a la harina de pescado en piensos para camarones, y obtener una harina que permita cierto nivel de sustitución de harina de pescado en dietas para esta especie de interés acuícola. Este proyecto contribuye al desarrollo de la acuicultura -pues en última instancia, busca abaratar los costes de producción de camarón pesaado de una forma sostenible utilizando diferentes subproductos, o abriendo nuevas posibilidades con productos como la moringa o la harina de insectos.

También contribuye al conocimiento del valor nutritivo de varios productos susceptibles de ser utilizados en la alimentación animal en general, y de camarones y/o peces en particular.

Por otra parte, este proyecto contribuirá a la formación de personal científico especializado ende las técnicas de evaluación de las fuentes proteicas, aplicables a otras especies, y necesarias para el desarrollo Agropecuario.

3. La metodología a utilizarse en la investigación. En esta parte se debe demostrar la viabilidad de la investigación.

Métodos analíticos:

-Métodos para determinar la composición química de las materias primas, piensos y de l camarón:

La composición proximal del camaron y de las harinas de insectos, harina de pescado y demás ingredientes de la dieta se determinara siguiendo la metodología descrita por el AOAC (2000):

- **Materia seca:** se secará en estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante (aprox. 24 h).
- **Proteína:** según el método Kjeldahl. La digestión con ácido sulfúrico en digestor Büchi y destilación con NaOH al 40%;
- **Grasa:** por gravimetría tras extracción con éter etílico por el método Soxhlet;
- **Cenizas:** por incineración en horno mufla a $500 \pm 5^\circ\text{C}$ hasta peso constante (24 h).
- **Fibra bruta:** según el método de Van Soest

La determinación del perfil de aminoácidos de las diferentes harinas ensayadas, de la harina de pescado demás ingredientes de la dieta se determinará mediante HPLC. Básicamente, las muestras se someterán a hidrólisis ácida en HCl 6M (20 mg tejido/mL), y tras sucesivos filtrados y la posterior derivatización, serán separadas en un cromatógrafo. Los resultados se expresarán como % en peso de cada aminoácido.

El perfil de ácidos grasos en el producto, de la harina de pescado, de las diferentes harinas ensayadas y demás ingredientes de la dieta se determinará mediante la técnica de Folch et al. (1957), para la extracción y de Rodríguez-Ruiz et al. (1998), para la metilación. Estos dos análisis se llevarán a cabo en las instalaciones de la Universidad de Almería y en el servicio de química de proteínas del centro de investigaciones biológicas (CSIC, Madrid, Spain)

- Criterio de calidad en las harinas además se determinarán la presencia de sustancias tóxicas inhibidores de los enzimas digestivos y digestibilidad *in vitro-vitro*.

La digestibilidad *in vitro* que se realizarán según la metodología descrita por Alarcón y col., 1999a; Alarcón y col., 2002 y que se basa en la utilización de extractos enzimáticos digestivos obtenidos del hepatopáncreas peces para evaluar la hidrólisis de las proteínas.

La presencia de inhibidores de proteasas en los ingredientes proteicos se evaluará según la metodología propuesta por Alarcón y col. (1999b) con algunas modificaciones. La extracción de los inhibidores se realizará de acuerdo con García-Carreño y col. (1997). En breve, las harinas serán molidas y los inhibidores de proteasa extraídos con tres volúmenes de agua destilada mediante agitación por 120 min a temperatura ambiente y por 22 h adicionales a 4°C . La mezcla resultante será centrifugada a 12000 g durante 20 min a 4°C . El sobrenadante obtenido se utilizará para la evaluación de los inhibidores. La presencia de inhibidores de proteasas en los ingredientes proteicos se evaluará según la metodología propuesta por Alarcón y col. (1999).

- Estudio *in vivo* del aprovechamiento digestivo, nutritivo de los piensos formulados con fuentes alternativas de proteína. En los peeces-camarones alimentados con las dietas experimentales se determinará: la digestibilidad *in vivo*, actividad de enzimas digestivas, parámetros biométricos e índices nutritivos:

Se formularán 2 dietas experimentales con diferente grado de sustitución de la harina de pescado por la fuente alternativa, y una dieta control con el 100% de la proteína procedente de la harina de pescado. Las dietas serán isoenergéticas e isoprotéicas. Todas las materias primas y dietas serán analizadas según los procedimientos descritos en el apartado de métodos analíticos.

El experimento se llevará a cabo con camarón marino (*Litopenaeus vannamei*). Durante los 4 meses del periodo experimental los animales se alimentarán "ad libitum" con las dietas experimentales y la dieta control, las cuales que se administrarán al menos dos veces al día. Para cada dieta se utilizarán 90 camarones (30 camarones/jaula x 3 réplicas). Cada semana, se tomará una muestra de 15 individuos, se les medirá la longitud, y peso-y-altura, tras lo cual se devolverán a las jaulas.

Al final de la experiencia los camarones-peeces serán sacrificados por sobredosis de anestesia o por shock térmico. Una vez pesados y tallados, se extirparán y pesarán los diferentes órganos. El hepatopáncreas, músculo de abdomen se almacenarán a -20°C para su posterior análisis. En el músculo se determinará composición proximal y perfil lipídico, en el hepatopáncreas se determinarán los enzimas digestivos, la actividad amilasa y proteasa.

Enzimas digestivas:

La actividad amilasa se determinará de acuerdo con el método de Somogy-Nelson usando almidón al 2% como sustrato (Robyt and Whelan, 1968).

La proteasa alcalina se determinará por el método de la caseína usando una solución al 1% de esta como sustrato (Kunitz, 1947; Walter, 1984).

Para la proteasa ácida se utilizara como sustrato hemoglobina al 0,5% (Anson, 1938).
La proteína se determinara por el método de Bradford (1976).
Una unidad de actividad enzimática (amilasa proteasa ácida o alcalina) se define como la cantidad de enzima que libera 1 µg producto (maltosa o tirosina) por minuto y mg de proteína.
La digestibilidad in vivo:
Se determinara usando el óxido de cromo como marcador y el contenidos de proteínas y de mas nutrientes por el métodos descritos en AOAC (2000).

Tras el periodo de alimentación se estudiaran los siguientes los parámetros biométricos de los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales.

Relación hepatosomática= 100 x peso del hepatopancreas / peso total del pez
Relación cefalotórax=100 x peso del cefalotórax/ peso total del pez
Ralción abdomen=100 x peso del abdomen/ peso total del pez
Porcentaje branquias= 100 x peso branquias / peso total pez

Tras el periodo de alimentación se estudiaran los siguientes los índices nutritivos en los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales según los datos de alimentación, peso y composición corporal:

Índice de conversión = peso (g) de pienso ingerido / ganancia de peso vivo (g)
Razón de eficiencia proteica = ganancia de peso vivo (g) / cantidad de proteína (g) ingerida.
Valor productivo del proteína= (N final-N inicial)/ N ingerido
Utilización energética de la dieta = energía retenida / energía ingerida
Factor de condición = (peso vivo/longitud³) x 100
Tasa de crecimiento específico = [(ln peso vivo final - ln peso inicial)/(días de duración del ensayo)) -1] x 100
Rendimiento= Peso del abdomen / peso total del camarón 100
Porcentaje de proteína corporal
Porcentaje de grasa corporal
Porcentaje de humedad corporal

Además se determinara % supervivencia y estado de salud

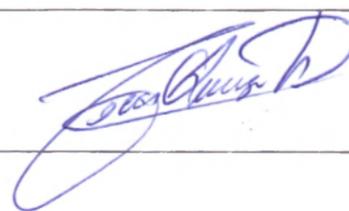
4. Productos esperados

En esta sección favor llenar el siguiente cuadro. Favor no modificar los componentes y obligatoriamente se debe cumplir con los componentes 1, 4 y 7. Si algún componente no aplica, favor colocar N/A

COMPONENTES	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	RESULTADOS POR OBJETIVO
1 INVESTIGACIÓN	<p>Estudio del valor nutritivo de fuentes alternativas de proteína a la harina de pescado</p> <p>Estudio del nivel de sustitución en el pienso para <u>camarón-tilapia</u></p>	<p>Conocimiento del valor nutritivo de diferentes subproductos <u>y/o fuentes alternativas para su utilización en la preparación de dietas balanceadas para camarón.</u></p> <p>Diseño de una formula balanceada pienso para <u>camarón</u> con un porcentaje de <u>sustitución</u> de la harina de pescado por una fuente alternativa que permita crecimiento similares a los elaborados con harina de pescado</p>

COMPONENTES	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	RESULTADOS POR OBJETIVO
2 CAPACITACIÓN CIENTÍFICA EN EL ÁREA PERTINENTE A SU ESPECIALIDAD (teórico y formativo)	Formación de personal especializado en técnicas específicas del campo de la nutrición y alimentación de peces/camarones	Consolidar líneas de investigación en el campo de la acuicultura con la formación de personal especializado
3 ASESORÍA EN LA ELABORACIÓN DE POLÍTICAS PÚBLICAS		
4 DOCENCIA	Docencia de la investigación: Aportar técnicas nuevas que permitan aumentar las capacidades <u>investigativas</u> de los estudiantes <u>Preparación y ejecución de charlas técnico-científicas y talleres teórico-prácticos para demostrar conceptos esenciales de la nutrición de organismos acuáticos</u>	Formación de estudiantes en técnicas de investigación <u>Transferencia de tecnología en lo referente a metodologías actuales en el campo de la nutrición de organismos acuáticos</u>
5 ASESORÍA Y DISEÑO DE PROGRAMAS DE POSTGRADO		
6 GESTIÓN DE RECURSOS NACIONALES E INTERNACIONALES (administrativos, humanos, económicos, etc.)		
7 RELACIONAMIENTO ESTRATÉGICO INTERINSTITUCIONAL A NIVEL NACIONAL E INTERNACIONAL	Establecer una vía de cooperación entre la universidad de Almería (España) y la universidad <u>Técnica</u> de Machala (Ecuador), y establecer contactos con centros de investigación y empresas del sector	Realización de proyectos conjuntos de investigación entre centros ecuatorianos y europeos. Posibilidad de organización de cursos de formación técnica en alimentación y nutrición de peces

Firma y sello de la contraparte de la institución de acogida




Nombre de la contraparte de la institución de acogida	DR. FAVIAN MAZA VALLE
Fecha de la propuesta	20 DE JUNIO DEL 2013