

**El ciclo lunar y retención de sulfitos con  
relación a la textura del exoesqueleto en  
*Litopenaeus vannamei***

**Ricardo Aly Araujo Mejía**

**ZAMORANO**  
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria  
Diciembre, 2000

**ZAMORANO**  
**Carrera de Ciencia y Producción**  
**Agropecuaria**

**El ciclo lunar y retención de sulfitos con  
relación a la textura del exoesqueleto en**  
*Litopenaeus vannamei*

Proyecto especial presentado como requisito parcial  
para optar al título de Ingeniero Agrónomo  
en el grado académico de Licenciatura

presentado por

**Ricardo Aly Araujo Mejía**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2000

El autor concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos del autor.

---

Ricardo Aly Araujo Mejía

**Zamorano, Honduras  
Diciembre, 2000**

**El ciclo lunar y retención de sulfitos con  
relación a la textura del exoesqueleto en  
*Litopenaeus vannamei***

presentado por

Ricardo Aly Araujo Mejía

Aprobada:

---

Daniel Meyer, Ph.D.  
Asesor Principal

---

Miguel Vélez, Ph.D.  
Coordinador de Area Temática

---

Claudia García, Ph.D.  
Asesor Secundario

---

Jorge Iván Restrepo, MBA  
Coordinador de la Carrera de  
Ciencia y Producción Agropecuaria

---

Carlos Aceituno, M.Sc.  
Asesor Granjas Marinas

---

Antonio Flores, Ph.D.  
Decano Académico

---

Aura Juárez, Ing.  
Asesor Secundario

---

Keith L. Andrews, Ph.D.  
Director General

---

John Jairo Hincapíe, Ph.D.  
Coordinador PIA Zootecnia

## **DEDICATORIA**

A Dios todo poderoso que me guía por el camino del bien

A mi Padre Armando y mi Madre Cándida que el todo poderoso la proteja, también a mis hermanos y hermanas mayores por sus buenos consejos y apoyo incondicional

A mi amiga especial Nelly

A mis buenos amigos Ricardo, Juan Carlos, Allyn, Angel, Reynerio y Mario por entenderme y soportarme



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por iluminarme y darme la sabiduría para terminar este reto de mi vida

A mis Padres por apoyarme siempre

Agradezco especialmente al Ing. Carlos Lara y el Ing. Hector L. Corrales por brindarme la oportunidad de alcanzar una de mis metas.

Agradezco a mis asesores el Dr. Meyer, la Dra. Claudia García por sus valiosos conocimientos. Al Ing. Carlos Aceituno por su muy buena colaboración, guía, amistad y compañerismo. A la Ing. Aura Juárez por sus consultas y aportes

Agradezco al Lic. Guillermo Espinoza, Carlos Palmese, Denis Canales, Walter Moreno, y todas las demás personas que laboran en el Departamento de Investigación y Desarrollo del Grupo Granjas Marinas por su valiosa ayuda para realizar este proyecto.

Agradezco a Enrique Weddle, Napoleón Araujo, Allan García, Gustavo Flores, y todos aquellos que me dieron su apoyo desinteresado en la realización de este proyecto

A Ricardo Gómez por sus buenos consejos y guía

Agradezco al Departamento de Control de Calidad del Grupo Granjas Marinas, a Claudia, Alba, Osiris, Ricardo, Javier, Jose Ruben. Su apoyo fue fundamental en el desarrollo de este proyecto

## **AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES**

Doy muchas gracias al Grupo Granjas Marinas S. A. por financiar mis estudios de cuarto año y mi proyecto especial con una beca completa. Su ayuda fue fundamental para la realización de esta meta de mi vida





## RESUMEN

Araujo M., Ricardo Aly. 2000. El ciclo lunar y retención de sulfitos con relación a la textura del exoesqueleto de *Litopenaeus vannamei*. Proyecto especial del programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 18 p.

El mayor exportador hondureño de camarón cola es el Grupo Granjas Marinas S.A. (GGM). El interés del GGM es diversificar y ampliar la comercialización de sus productos al mercado francés. El mercado francés exige camarón entero con carne de consistencia firme, exoesqueleto rígido y con apariencia libre de melanosis. La muda en camarones no siempre es uniforme en el tiempo, es afectada por varios factores como las fases lunares. El metabisulfito de sodio (MBS) inhibe la formación de melanosis y los franceses aceptan residuos de sulfitos hasta 150 ppm en los mariscos. El MBS es mayormente absorbido junto con el agua en la muda. La absorción de MBS puede resultar en residuos de sulfitos que sobrepasan el nivel tolerable en Francia. Los objetivos del estudio fueron determinar el mejor momento para cosechar los camarones y determinar el nivel de retención de sulfitos según las características de textura del exoesqueleto con relación a los ciclos lunares. Los camarones de las lagunas de producción fueron muestreados y clasificados según la textura de su exoesqueleto en cada fase lunar. Grupos de 150 individuos fueron clasificados según textura de su exoesqueleto, y sometidos a un baño en una solución de 10% de MBS con una mezcla de solución:hielo de 4:1 durante 10 minutos. Se determinaron las concentraciones de sulfitos en los tejidos de los camarones durante seis semanas de almacenado con el método Monier Williams. Los mejores momentos para cosechar camarones con exoesqueleto duro son las fases de luna llena y luna nueva ( $P < 0.05$ ). Al final de las seis semanas de almacenamiento los camarones con exoesqueleto duro tenían menos de 150 ppm y cumplían con las exigencias del mercado francés. Los animales mudados retuvieron 3.2 veces más sulfitos que los camarones con exoesqueleto duro ( $P < 0.05$ ). La mayor retención de sulfitos en los camarones mudados puede deberse a que el exoesqueleto no endurecido facilita la absorción de agua y sustancias químicas.

Palabras claves: Melanosis, muda,  $\text{Na}_2\text{HSO}_3$ , ritmos lunares, textura.

---

Dr. Abelino Pitty

## NOTA DE PRENSA

### **Efecto de las fases lunares en el ciclo de muda de los camarones**

La muda en los camarones es un proceso usado para crecer pero no siempre es uniforme en el tiempo, es afectada por varios factores como las fases lunares. Similar al caso de la pesca comercial que durante luna llena y luna nueva el sol, la luna y la tierra están alineados y hay un mayor efecto gravitacional sobre las mareas. Con un mayor movimiento de las mareas, hay mayor actividad de los peces y mayor captura en la pesca comercial.

El crecimiento en artrópodos es un proceso discontinuo. Ellos incrementan en tamaño al momento de la muda, es decir, al perder el viejo exoesqueleto (caparazón) y antes de endurecer el nuevo. Durante la muda el camarón absorbe agua, la cual asegura suficiente espacio para permitirle al camarón crecer.

Doce estanques comerciales de producción de camarón ubicados en Granjas Marinas San Bernardo S.A. de C.V.(GMSB) en el departamento de Choluteca, fueron utilizados para realizar muestreos de textura del exoesqueleto del camarón. Se realizaron dos muestreos por semana durante cuatro semanas en luna llena, cuarto menguante, cuarto creciente y luna nueva en cada estanque, durante los meses de marzo, abril y mayo de 2000.

En las fases cuarto menguante y cuarto creciente se detectó los promedios mas altos de camarón en muda, con 14 y 12 por ciento de la población respectivamente. En las fases de luna llena y luna nueva se encontró la mayor fracción de camarones con exoesqueleto endurecido.

Para exportar camarón entero, se necesita preservarlo con un químico llamado metabisulfito de sodio(MBS). En Europa se exige camarón con exoesqueleto rígido y se aceptan residuos de sulfitos hasta 150 ppm en los mariscos. El MBS es mayormente absorbido junto con el agua en la muda. La absorción de MBS puede resultar en residuos de sulfitos que sobrepasan el nivel tolerable por los europeos, lo cual traería pérdidas a la empresa.

Una investigación realizada en junio del año 2000 en GMSB determinó que para poder exportar camarón entero, es necesario cosechar solamente aquellos camarones que tengan su exoesqueleto endurecido que se encuentran en las fases de luna llena y luna nueva ( $P < 0.05$ ).



## CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimientos a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de Prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Indice de Cuadros.....	x
	Indice de Figuras.....	xi
	Indice de Anexos.....	xii
<b>1</b>	<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>5</b>
2.1	UBICACION.....	5
2.1.1	Fase I Evaluación de la textura del exoesqueleto con relación al ciclo lunar .....	5
2.1.1.1	Toma de las muestras.....	5
2.1.1.2	Análisis estadístico.....	6
2.1.2.	Fase II Tratamiento de camarones con MBS a diferentes texturas.....	6
2.1.2.1	Tratamiento.....	6
2.1.3	Fase III Detección de residuos de sulfitos durante seis semanas de Almacenamiento a -18°C.....	6
2.1.3.1	Análisis estadístico.....	7
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>8</b>
3.1	TEXTURA DEL EXOESQUELETO Y LAS FASES LUNARES.....	8
3.2	DETECCIÓN DE RESIDUOS DE SULFITOS EN CAMARONES TRATADOS CON MBS CON DIFERENTES TEXTURAS DE EXOESQUELETO DURANTE SEIS SEMANAS DE CONGELADO A -18°C.....	12
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>14</b>
<b>5</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>15</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>16</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>18</b>

**INDICE DE CUADROS**

## Cuadro

1.	Distribución de 8,492 ejemplares de <i>Litopenaeus vannamei</i> muestreados en 12 estanques comerciales en el sur de Honduras, según categorías de textura del exoesqueleto.....	9
2.	La fracción de la población de <i>Litopenaeus vannamei</i> con su exoesqueleto duro o mudado según las fases lunares en el sur de Honduras.....	10
3.	Concentración de residuos de sulfitos (ppm) en ejemplares de <i>Litopenaeus vannamei</i> tratados con metabisulfito y almacenados a -18°C durante seis semanas, según la textura de su exoesqueleto según el método Monier Williams.....	13

**INDICE DE FIGURAS**

## Figura

1. Porcentaje de la población de camarones con exoesqueleto duro, mudado, blando 2, blando 1, durante las diferentes fases lunares..  
..... 9
2. La fracción de camarones encontrados con exoesqueleto duro con relación a las fases lunares. Se examinó un total de 4,000 camarones durante los meses de abril y mayo del 2000 en el sur de Honduras  
..... 11

**INDICE DE ANEXOS**

## Anexo

1. Procedimientos para la detección de residuos de sulfitos por el método Monier Williams..... 18
2. Muestras de textura del exoesqueleto de *Litopenaeus vannamei* tomados de doce lagunas comerciales en diferentes fechas durante el 2000, Honduras..... 22



## 1. INTRODUCCION

La industria de camarón cultivado en Honduras contribuye socioeconómicamente al desarrollo de la zona sur del país. La actividad genera alrededor de 25,000 empleos directos (Sampson, 1997) y da aproximadamente 112 millones de dólares al año en divisas (ANDAH, 1994). El mayor exportador hondureño de camarón cola es el Grupo Granjas Marinas S.A. (GGM).

El GGM tiene interés en diversificar sus productos de exportación y ampliar los mercados donde son comercializados. El mercado tradicional para el camarón cultivado en Centroamérica es de colas exportadas a Norteamérica. En Europa existe la posibilidad de comercializar el camarón entero. Ecuador tiene más de 15 años de experiencia exportando camarón entero a Europa (Banco Central del Ecuador, 1998).

El mercado europeo para camarón entero es el más exigente en cuanto a calidad del producto (Villalón, 1994). El GGM cuenta con algunos antecedentes sobre el manejo adecuado del camarón entero (GRUPO GRANJAS MARINAS, 1999) pero pocos conocimientos sobre los parámetros de calidad que requiere este mercado selecto. Los procedimientos actuales de exportación de camarón con cabeza, implementados por las principales compañías exportadoras de camarón en Honduras, aún no logran satisfacer las demandas del mercado francés.

El mercado francés exige un camarón con carne de consistencia firme y con un exoesqueleto rígido. El crecimiento en artrópodos es un proceso discontinuo. Ellos incrementan en tamaño al momento de perder el exoesqueleto viejo y antes de endurecer el nuevo durante la muda o ecdysis (Villalón, 1994). La frecuencia de la muda es influenciada por una gran variedad de condiciones y factores. Cuatro periodos son reconocidos en el proceso de muda de los crustáceos (Turner y Bagnara, 1971).

El primer período es la premuda, en la cual los constituyentes del exoesqueleto viejo, como el calcio y otros minerales de reserva, son reabsorbidos parcialmente y almacenados en el hepatopancreas del camarón, ellos serán depositados al formarse el nuevo exoesqueleto. El segundo período es la muda, la cual es el despojo del viejo exoesqueleto protector. Durante la muda el camarón es vulnerable al canibalismo y sustancias químicas tóxicas en el agua (Villalón, 1994).

La muda es acompañada por un incremento en el tamaño del animal. El incremento inmediato de tamaño resulta de una rápida absorción de agua, la cual asegura suficiente espacio para permitirle al camarón crecer, aún después que la nueva cutícula se ha

endurecida (Turner y Bagnara, 1971). La absorción de agua continúa por un tiempo después que el animal emerge de su exoesqueleto (Villalón, 1994).

El tercer período es la posmuda, durante el cual el nuevo exoesqueleto es endurecido por medio de la redeposición de quitina y sales inorgánicas en la cutícula. El último periodo es la intermuda, caracterizada por procesos de almacenamiento de reservas para la siguiente muda. Durante la intermuda el camarón permanece con su exoesqueleto endurecido. Algunos crustáceos adultos eventualmente dejan de mudar y, consecuentemente pasan a una etapa de no-crecimiento, una condición llamada anecdesis. (Turner y Bagnara, 1971).

La frecuencia de la muda depende del tamaño del camarón. En los estados larvales la muda ocurre cada 30 a 40 horas a 28°C. Con pesos entre uno a cinco gramos, los camarones mudan a intervalos de cuatro a seis días. Los camarones de 15 g mudan a intervalos de dos semanas aproximadamente (Wyban y Sweeney, 1991). El proceso completo de muda dura aproximadamente dos días y puede ocurrir a intervalos de dos semanas en camarones adultos de 15 g (Villalón, 1994).

Las condiciones ambientales y factores nutricionales también afectan la frecuencia de la muda. Las altas temperaturas incrementan la frecuencia de la muda. La absorción de oxígeno es menos eficiente durante la muda y animales que mueren en el proceso lo hacen a menudo por hipoxia. Una respuesta del camarón al estrés es variar las frecuencias de la muda (Wyban y Sweeney, 1991).

La actividad de los animales no es uniforme con el transcurso del tiempo. En algunos períodos se reduce o varía la actividad de los animales, para luego reiniciarse con la modalidad normal. Se habla entonces de ciclos o ritmos de actividad, los cuales suelen coincidir frecuentemente con los cambios físicos del universo. Los ritmos más conocidos son los que abarcan alrededor de 24 horas (circadianos), un año (circanales), y los ciclos lunares.

Los ritmos de actividad en animales marinos a menudo coinciden con los ciclos lunares. Estos ritmos de actividad son menos frecuentes en las especies de animales de agua dulce y terrestres (Vaz-Ferreira, 1984). Cuando la Luna, el Sol, y la Tierra están alineados, (durante la luna llena y luna nueva) hay un mayor efecto gravitacional sobre las mareas. Con una mayor fluctuación de mareas hay mayor actividad de los peces y mayor captura en la pesca comercial. Durante cuarto menguante y cuarto creciente no existe esa alineación, las mareas tienen menor fluctuación, y hay menor actividad de los peces (Davidson, 2000).

Los franceses son muy exigentes en cuanto a la apariencia del camarón, y castigan fuertemente al camarón con presencia de melanosis ("black spot"). El término melanosis se refiere a una coloración negruzca producida enzimáticamente por la acción de la polifenol oxidasa (tirosinasa). La melanosis hace su aparición pocas horas después de haber muerto el camarón. La coloración negruzca aparece primeramente en la cabeza, extendiéndose paulatinamente a la cola y las extremidades del camarón (Hispano Química

S.A., 1987) La melanosis reduce el valor comercial y la aceptación de los camarones en los mercados internacionales (Wigglesworth, 1995). Uno de los métodos más sencillos para la prevención de melanosis es el descabezado, ya que la mayoría de la enzima causante del oscurecimiento está ubicada en el cefalotórax del camarón (Slattery *et al.*, 1992).

Los sulfitos han sido usados por la industria pesquera desde los años '50 para prevenir melanosis en los camarones (Slattery *et al.*, 1992). Varios tipos de sulfitos han sido utilizados para evitar melanosis y como preservantes generales (Fennema, 1996). Los europeos aceptan hasta 150 ppm de residuos de sulfitos en camarón congelado en tallas de 80 unidades (CEE, 1999).

En la pesca y cultivo de camarón, el producto de más amplio uso para evitar melanosis es el metabisulfito de sodio (MBS) (López, 1990). El MBS puede ser mayormente absorbido junto con el agua en la ecdysis (Villalón, 1994). Con una mayor absorción se obtiene una concentración de sulfitos por encima del nivel tolerable en Francia.

El método usado para la detección de residuos de sulfitos a nivel de laboratorio es denominado Monier Williams (M-W), el cual está basado en un proceso de destilación (FDA, 1987). El método M-W permite medir la concentración de sulfitos en muestras de tejido de animales. Es un método preciso pero tiene el inconveniente que necesita varias horas para desarrollarse (Slattery *et al.*, 1992 ).

El mercado de camarón entero permite comercializar un producto de menor tamaño comparado al mercado de colas. Cosechar camarones con menor talla contribuye a la eficiencia productiva de la finca camaronera acortando en tiempo los ciclos de producción. A la vez reduce el tiempo de exposición de los camarones a diferentes patógenos.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Contribuir al adecuado manejo de los cultivos, a las practicas utilizadas en las cosechas y en el procesamiento de ejemplares de *Litopenaeus vannamei* para su exportación al mercado francés.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Determinar el mejor momento de cosecha según características de textura del exoesqueleto del camarón con relación a los ciclos lunares y ecdysis.

Determinar la concentración de sulfitos en camarones con exoesqueleto de diferentes texturas y almacenado a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante seis semanas.

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1 UBICACION

Todas las pruebas de laboratorio y de campo de este estudio fueron desarrolladas en las instalaciones del Grupo Granjas Marinas S.A. en el sur de Honduras. El estudio estuvo comprendida por tres fases que fueron: I) evaluación de la textura del exoesqueleto de los camarones con relación al ciclo lunar II) tratamiento de los camarones con MBS a diferentes texturas, y III) detección de residuos de sulfitos en camarones tratados con MBS durante seis semanas de almacenamiento a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

#### 2.1.1 Fase I: Evaluación de la textura del exoesqueleto con relación al ciclo lunar

Doce estanques comerciales de producción de camarón con un área de 24 ha cada uno, ubicados en Granjas Marinas San Bernardo S.A. de C.V., Choluteca, fueron utilizados para realizar muestreos de textura del exoesqueleto del camarón. Se realizaron dos muestreos por semana durante cuatro semanas en luna llena, cuarto menguante, cuarto creciente y luna nueva en cada estanque durante los meses de marzo, abril y mayo de 2000.

**2.1.1.1 Toma de las muestras.** En cada muestreo se evaluaron un mínimo de 100 camarones de cada estanque capturados al azar en las lagunas con una atarraya y canastas entre las 7:00 y 11:00 de la mañana. Los camarones fueron clasificados sobre una escala de cuatro categorías de rigidez o textura del exoesqueleto. La clasificación de los camarones fue determinada por personal de la finca con experiencia. Las cuatro categorías de rigidez o textura se describen a continuación:

**Categoría 1-** Muda: Son los camarones recién mudados, Se caracterizan porque se puede sentir el tejido vivo interno en la cola y cabeza del animal al tocarlo. El exoesqueleto del camarón recién mudado tiene una consistencia muy blanda, especialmente, en la cabeza y rostrum del animal.

**Categoría 2-** Blando 1: Son los camarones mudados hace varias horas. Se caracterizan por la presencia de cierto tejido exoesquelético en la cola y la cabeza del animal que es aún blanda. Tiene más de un segmento del dorso blando. En la clasificación blando 1 el exoesqueleto tiene capacidad de flexión al tocar los primeros dos segmentos del dorso abdominal del camarón y en la parte superior de la cabeza y rostrum.

**Categoría 3-** Blando 2: Estos animales se caracterizan por tener el exoesqueleto más sólido pero sin llegar a duro. El exoesqueleto se denota nuevo y un poco suelto. El cefalotórax o cabeza del camarón se encuentra sólido aunque el primer segmento de la cola aun es blando.

**Categoría 4-** Duro: En esta etapa el exoesqueleto de todo el cuerpo del animal se encuentra rígido en su totalidad y con capacidad de flexión normal. Una vez evaluados los 100 camarones individualmente, se determinó el porcentaje de cada categoría con relación al ciclo lunar. Un total de 8,492 camarones fueron incluidos en esta parte del estudio.

**2.1.1.2 Análisis estadístico.** El análisis de los resultados se realizó con el programa "Statistical Analysis System" (SAS, 1993). Se analizaron las variables fases lunares y categorías de textura del exoesqueleto utilizando un diseño factorial.

### **2.1.2 Fase II: Tratamiento de camarones con MBS a diferentes texturas**

El 14 de junio de 2000, grupos de 150 camarones con un peso promedio de 12g fueron obtenidos con atarrayas en horas de la mañana de varias lagunas de producción. Se utilizó una balanza digital para clasificar los camarones a un peso promedio similar, luego se evaluó y clasificó cada camarón según las categorías de dureza del exoesqueleto. Cada grupo de 150 individuos, con peso y textura uniformes, se depositó en una tina de 200 litros de agua que tenía un aireador para mantener los camarones con suficiente oxígeno.

**2.1.2.1 Tratamiento.** Cada grupo de 150 individuos de la misma categoría de textura exoesquelética fue sometido a un baño de inmersión en una solución de 10% de metabisulfito de sodio y con una proporción de solución: hielo de 4:1, durante 10 minutos. La preparación de las soluciones de metabisulfito de sodio se realizó en baldes de 20 litros de capacidad etiquetados con las categorías de textura de los camarones. Se usaron 10 litros de la solución 4:1 para cada tratamiento, la cual se preparó 30 minutos antes de realizar el baño. Luego se realizó un lavado de cada grupo con cloro a 30 ppm durante tres minutos.

**Empaque de las muestras tratadas.** Una vez tratados los camarones, fueron empacados en bolsas plásticas con igual cantidad de hielo en grupos de 30 animales. Las bolsas fueron etiquetadas con la fecha de tratamiento, peso promedio de los camarones, número de laguna y categoría de textura. Estas muestras fueron llevadas al Biolab ubicado en Punta Ratón, Choluteca.

### **2.1.3 Fase III: Detección de residuos de sulfitos durante seis semanas de almacenamiento a -18°C**

La detección de residuos de sulfitos fue hecha con muestras por duplicado usando el método Monier Williams (ver anexo 1) aprobado por el Departamento de Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América (FDA). Los análisis de residuos fueron realizados en la semana cero, tres y seis posterior al tratamiento de los camarones con MBS manteniendo congeladas las muestras a una

temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  con el objetivo de determinar la variación de residuos versus el tiempo de congelado.

**2.1.3.1 Análisis estadístico.** El análisis de los resultados se realizó con el programa "Statistical Analysis System" (SAS, 1993). Se analizaron las variables categorías de textura del exoesqueleto y residuos de sulfitos (ppm) utilizando el modelo medidas repetidas en el tiempo.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSION**

#### **3.1 TEXTURA DEL EXOESQUELETO Y LAS FASES LUNARES**

Entre los 8,492 camarones evaluados, 59% de individuos presentaban un exoesqueleto duro, seguido por los clasificados como blando 1, blando 2 y mudados (Cuadro 1)( $P < 0.05$ ). Eso se debió probablemente, a que el camarón pasa más tiempo en la fase de intermuda con su exoesqueleto duro o rígido, que en las demás categorías. El proceso completo de muda dura aproximadamente dos días y ocurre generalmente a intervalos de más o menos dos semanas de duración (Villalón, 1994). La frecuencia de la muda varía según muchos factores. Entre ellos están el estado de desarrollo y peso del camarón, temperatura del agua, factores nutricionales y enfermedades (Wyban y Sweeney, 1991).

Las fracciones de los camarones clasificados como mudados y blando 2 presentaban una tendencia de disminución durante las fases de luna llena y luna nueva (Figura 1). En estas dos fases lunares la mayoría de los camarones tuvo su exoesqueleto duro y aparentemente hubo poca actividad de muda. Este resultado posiblemente sea debido a que los camarones tienen comportamientos cíclicos afectados por las fases lunares (Davidson, 2000).

Según los resultados de este estudio se encontró una mayor proporción de camarones con exoesqueleto duro en las fases de luna llena y luna nueva (Cuadro 2)( $P < 0.05$ ). Se observó una estrecha relación entre las fases lunares y la fracción de camarones con exoesqueleto duro ( $R^2 = 0.95$ ) (Figura 2).

En las fases cuarto menguante y creciente se detectó los promedios más altos de camarón en muda, con 14 y 12% de la población respectivamente, La proporción de animales con exoesqueleto duro fue menor durante las fases de cuarto menguante y creciente (Cuadro 2)( $P < 0.05$ ).

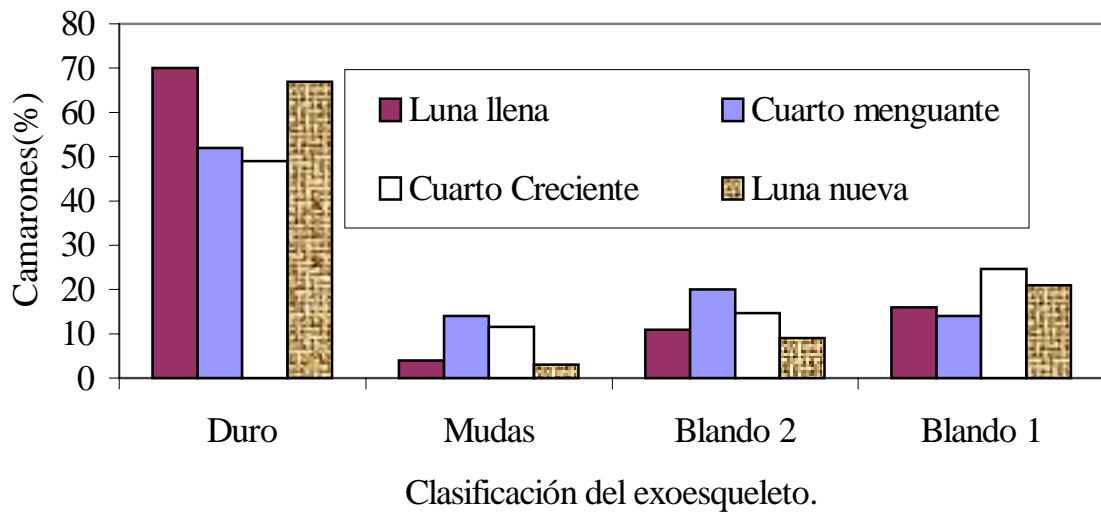
Para cumplir con las exigencias del mercado francés, se requiere cosechar camarones con exoesqueleto rígido. Estos resultados demuestran que el mejor momento para cosechar los camarones con exoesqueleto duro es durante las fases de luna llena y nueva en verano.



**Cuadro 1.** Distribución de 8,492 ejemplares de *Litopenaeus vannamei* muestreados en 12 estanques comerciales en el sur de Honduras, según categorías de textura del exoesqueleto

Textura	% de la población <sup>a</sup>
Duro	59 a
Blando 1	19 b
Blando 2	14 c
Muda	8 d

<sup>a</sup>Valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

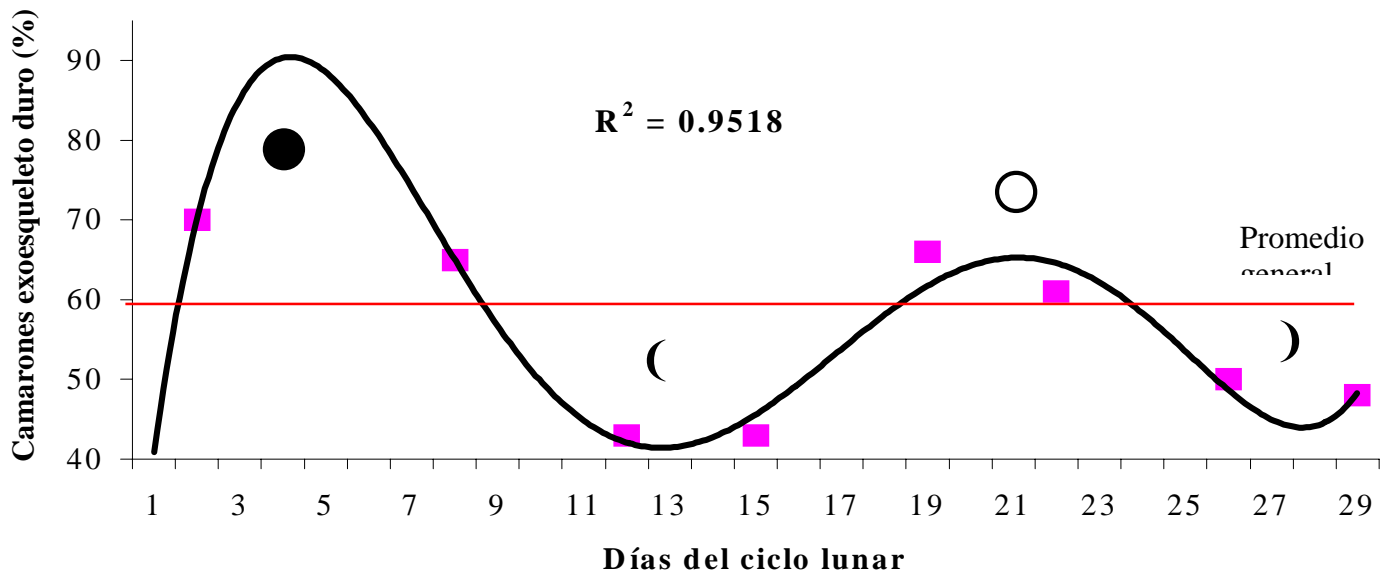


**Figura 1.** Porcentaje de la población de camarones con exoesqueleto duro, mudado, blando 2, blando 1, durante las diferentes fases lunares.

**Cuadro 2.** La fracción de la población de *Litopenaeus vannamei* con su exoesqueleto duro o mudado según las fases lunares en el sur de Honduras.

Fase lunar	Textura	% de la población <sup>a</sup>
Luna llena	Duro	70 a
Luna Nueva	Duro	67 a
Cuarto Menguante	Duro	52 b
Cuarto Creciente	Duro	49 b
Cuarto Menguante	Muda	14 c
Cuarto Creciente	Muda	12 c
Luna nueva	Muda	3 d
Luna llena	Muda	4 d

<sup>a</sup>Valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes( $P < 0.05$ ).



**Figura 2.** La fracción de camarones encontrados con exoesqueleto duro con relación a las fases lunares. Se examinó un total de 4,000 camarones durante los meses de abril y mayo del 2000 en el sur de Honduras.

### **3.2 DETECCION DE RESIDUOS DE SULFITOS EN CAMARONES TRATADOS CON MBS CON DIFERENTES TEXTURAS DE EXOESQUELETO DURANTE SEIS SEMANAS DE CONGELADO A -18 °C**

En promedio los camarones mudados tuvieron la mayor cantidad de residuos de sulfitos. La concentración promedio de sulfitos en individuos mudados fue 3.2 veces mayor que la encontrada en los camarones con exoesqueleto duro (Cuadro 3)( $P < 0.05$ ). Los camarones con exoesqueleto clasificado como blando 1 y blando 2, presentaron valores intermedios (Cuadro 3)( $P < 0.05$ ). La menor cantidad de sulfitos fue encontrada en los camarones con exoesqueleto duro.

El exoesqueleto de los crustáceos funciona como protección y para impedir el intercambio de sustancias químicas con el medio ambiente acuático. Con su exoesqueleto no endurecido el animal absorbe agua y otras sustancias químicas con mas facilidad (Villalón, 1994). Este hecho ayuda a explicar la mayor cantidad de residuos de sulfitos en animales mudados y con exoesqueleto blando.

A lo largo de seis semanas de almacenamiento a  $-18^{\circ}\text{C}$ , se notó un descenso general en la concentración de sulfitos en los camarones (Cuadro 3). Los camarones con exoesqueleto duro presentaron el mayor descenso (35%), y los animales mudados el menor (7%) ( $P < 0.05$ ).

Los sulfitos se retuvieron más tiempo en los animales mudados y almacenados a  $-18^{\circ}\text{C}$ . La congelación y almacenado contribuyen a bajar los niveles de sulfitos en los camarones hasta en 20% (López, 1990). El exoesqueleto blando es más poroso y así el tejido del camarón absorbe una mayor cantidad de sulfitos que un animal con exoesqueleto duro. Al final de las seis semanas de almacenamiento los camarones con exoesqueleto duro tuvieron niveles de sulfitos inferiores a los niveles máximos permisibles del mercado francés (Comunidad Económica Europea, 1999).

**Cuadro 3.** Concentración de residuos de sulfitos (ppm) en ejemplares de *Litopenaeus vannamei* tratados con metabisulfito y almacenados a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante seis semanas, según la textura de su exoesqueleto según el método Monier Williams

Tratamiento	Semana 0	Semana 3	Semana 6	Promedio <sup>a</sup>	Descenso % SO <sub>2</sub>
Muda	571.6 a	525.0 a	534.0 a	543.6 a	7
Blando 2	439.8 b	357.4 b	313.9 b	370.3 b	28
Blando 1	262.3 c	239.2 c	204.9 c	235.6 c	22
Duro	215.6 c	166.6 d	139.3 d	173.9 d	35
					Promedio=23

<sup>a</sup>Valores seguidos por la misma letra no son estadísticamente diferentes( $P<0.05$ )

#### 4. CONCLUSIONES

- Se encontró una mayor cantidad de camarones con exoesqueleto duro durante las fases de luna llena y luna nueva en la época que se realizó este estudio (verano).
- Se encontró una relación estrecha entre las fases lunares y la proporción de camarones en sus diferentes texturas.
- Los camarones mudados retienen una mayor cantidad de sulfitos que los camarones con exoesqueleto duro.
- Durante el almacenamiento a  $-18^{\circ}\text{C}$  se reduce la concentración de sulfitos en los tejidos de los camarones.
- Solamente los camarones con exoesqueleto duro tuvieron concentraciones de sulfitos que alcanzaban los criterios ( $<150$  ppm) para ser comercializados en el mercado francés.

## 5. RECOMENDACIONES

- Estudiar la duración de cada etapa del ciclo de muda en relación al peso de los camarones.
- Investigar si aplicaciones de Calcio puede tener un efecto sobre la velocidad del endurecimiento del exoesqueleto en camarones.
- Realizar muestreos de textura del exoesqueleto de los camarones durante todos los días de cada fase lunar para determinar la tendencia del ciclo ciclo completo.
- Realizar este estudio durante la época de invierno.
- Establecer si los costos incurridos en el tratamiento con MBS dejan un beneficio equivalente al recibido comercializar el camarón como cola.

## 6. LITERATURA CITADA

- ANDAH, 1994. Boletín informativo. No 5. Tegucigalpa, Honduras. 6 p.
- BANCO CENTRAL DEL ECUADOR, 1998. Evolución de exportaciones de camarón a Europa. <http://www.corpei.org/español/oferta/camaron/ExportacionesCamaronEuropa.htm> (31 de octubre del 2000).
- DAVIDSON, B. 2000. Moon Phases How should they affect your fishing. [http://www.flfish.com/fl/how\\_to/Moon\\_Phases.htm](http://www.flfish.com/fl/how_to/Moon_Phases.htm) (15 de octubre del 2000).
- CEE, 1999. Legislación sobre la utilización de sulfitos, nitritos y nitratos en los productos alimenticios. [http://www.cde.ua.es/dsi/doc.htm?DOL:l\\_32919991222es00010014.pdf](http://www.cde.ua.es/dsi/doc.htm?DOL:l_32919991222es00010014.pdf) (30 de octubre del 2000).
- FENNEMA, O.R. 1996. Food Chemistry. 3 ed. New York, Marcel Dekker. 1067 p.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 1987. Método Monier Williams. *In* Pesticide Analytical Manual. USA. 4 p.
- GRUPO GRANJAS MARINAS, 1999. Narración del proceso de camarón con sulfito. *In* Manual de Procedimientos. Empacadora San Lorenzo, San Lorenzo, Valle. 150 p.
- HISPANO QUIMICA S.A. 1987. Manual informativo de BACTEROL F. Barcelona, España. 11 p.
- LOPEZ, F. 1990. LA MELANOSIS DEL CAMARON: ¿Tendremos que olvidar el bisulfito?. ALIMENTARIA (ESPAÑA) 90(47):47-52
- SAMPSON, M. 1997 Comparación fisico-química del agua de dos esteros del sur de Honduras en época seca. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 20 p.
- SAS Institute. 1993. SAS<sup>®</sup> User's Guide Statistics. Version 6.12 Edition. SAS Institute Inc; Cary, NC.
- SLATTERY, L.; WILLIAMS, D.J.; DEETH, H.C. 1992. How to use Sodium Metabisulphite to prevent Black Spot on Prawns. Fishing Industry Inc. Queensland, Australia. 13 p.



TURNER, D.; BAGNARA, J. 1971. General Endocrinology. 5 ed. Philadelphia, Press of W. B. Saunders company. 200 p.

VAZ-FERREIRA R, 1984. El estudio biológico del comportamiento animal. 2 ed. Washington D.C. Departamento de asuntos científicos y tecnológicos de la secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. 350 p.

VILLALON, R. 1994. Manual práctico para la producción comercial semi-intensiva de camarón marino. Texas A&M University. Bryan Texas, U.S.A. 122 p.

WIGGLESWORTH, J. 1995. Analysis of the mechanism of blackspot formation during the moult cycle of *Litopenaeus vannamei*. The Queen's University Belfast (Northern Ireland). 9 p.

WYBAN, J.; SWEENEY, J. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. The oceanic institute Honolulu, Hawaii. Redmond, Washington U.S.A. Argent Chemical Laboratories. 153 p.

## 7. ANEXOS

### ANEXO 1. PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCION DE RESIDUOS DE SULFITOS POR EL METODO MONIER WILLIAMS.

El método estándar de laboratorio para la detección de residuos de sulfitos M-W es basado en un proceso de destilación. El método M-W mide los residuos sulfitos en solución o en el tejido de un animal. El método M-W es preciso pero tiene el inconveniente que necesita varias horas para desarrollarse (Slaterry *et al.*, 1992 ). El método M-W es aceptado por la "Food and Drug Administration" FDA de USA.

#### PREPARACION DE REACTIVO:

Los reactivos requeridos para el método M-W son:

- Acido clorhídrico (4N )
- Gas nitrógeno de alta pureza
- Indicador rojo de metilo.
- Trampa de pyrogallol
- Peróxido de hidrogeno (3%)
- Hidróxido de potasio (KOH)
- Titulante estandarizado de Na(OH) (0.01 N)

Acido clorhídrico (4N): Para cada análisis preparar 90 ml de ácido clorhídrico agregando 30 ml de ácido concentrado (12N) en 60 ml de agua destilada.

Indicador rojo de metilo: Disolver 250 mg de rojo de metilo en 10 ml de etanol si el rojo de metilo es en polvo (si es líquido no disolver), mantenga fuera de la luz.

Peróxido de hidrogeno 3%: Diluir reactivo ACS 30% de peróxido de hidrogeno al 3% con agua destilada.(100 ml de peróxido de hidrogeno en 900 ml de agua destilada, considerando que solo se utilizan 30 ml por análisis queda preparada la solución para varias pruebas)

Titulante estandarizado Na(OH) 0.01N: El titulante se obtiene de la mezcla de 0.4 gr de Na(OH) (pelets) con un litro de agua destilada, sellar bien el recipiente de Na(OH) por ser altamente higroscópico.

Gas nitrógeno: Una fuente de alta pureza (99.9%) es requerida y esta debe ser aplicada utilizando un regulador de flujo que lo mantendrá en 200 cc/min (90 burbujas/minuto)

NOTA: Una vez preparados todos los reactivos y la trampa de pyrogallol comience con el paso 1 del protocolo M-W.

Preparación de la trampa de pyrogallol

- Agregar 4.5 g de pyrogallol en un erlen meyer de 1000 ml y purgar durante 3 minutos con gas nitrógeno para evacuar el oxígeno y crear una atmósfera de nitrógeno en el erlen meyer.
- Preparar una solución con 85 ml de agua destilada y 65 g de KOH, agregar al erlen meyer después de haber sido purgado con gas nitrógeno.

EQUIPO:

La cristalería y equipo requerido para M-W es:

- Manta de calor
- Balón separador (A)
- Embudo (B)
- Válvula de entrada (C)
- Conectores (D)
- Condensador (E)
- Mangueras (F)
- Probeta o trampa de sulfitos (G)
- Trampa de pyrogallol (H)
- Fuente de enfriamiento (I)
- Bureta (J)
- Cilindro de gas nitrógeno (K)

El método M-W involucra 16 pasos para la determinación de la presencia de sulfitos en una muestra:

1. Revisar y ensamblar el aparato como se muestra en la figura 1., agregar una película de vaselina a cada una de las uniones.
2. El balón separador (A) debe estar posesionado sobre la manta de calor, el flujo de enfriamiento del condensador debe de iniciar.
3. Agregar 400 ml de agua destilada en el balón y cierre la llave de paso del embudo. Agregue 90 ml de ácido clorhídrico (4N) al embudo. Comience el flujo de gas nitrógeno a una tasa de 200 cc/min (90 burbujas en la probeta o trampa G).
4. Agregue 30 ml de peróxido de hidrogeno al 3% a la trampa (G), el cual ha sido titulado con 3 gotitas de NaOH al 0.01 N hasta llegar a un punto amarillo claro.
5. Después de 15 minutos de estar funcionando el aparato, el agua destilada estará libre de oxígeno, el aparato está listo para introducir la muestra.
6. Preparar una muestra de 50 g de cola de camarón con exoesqueleto, partido en tres pedazos cada camarón.
7. Preparar una solución de 100 ml de etanol al 5% en un beaker de 250 ml.
8. Remover el embudo (B) y transferir la muestra al balón (C).
9. Limpiar el orificio de entrada de la muestra, el flujo de nitrógeno a través de la solución de peróxido de hidrogeno debe ser reiniciado tan pronto como el embudo sea reinsertado.
10. Examinar cada unión para asegurarse que este bien sellado el equipo.
11. Aplique presión con ayuda de un bulbo equipado con válvula, a la solución de ácido clorhídrico que se encuentra en el embudo (B).
12. Abrir la válvula del embudo y permita que el ácido fluya dentro del balón aplicando presión para facilitar el procedimiento. Antes de que halla evacuado todo el ácido del embudo hacia el balón cierre la llave de paso para evitar la salida del dióxido de azufre hacia el embudo.
13. Aplicar calor sobre la manta (en el nivel 5.3/10) usando un poder regulador que cause 80 a 90 gotas por minuto de condensado al retorno del frasco condensador (E).
14. Después de 105 minutos de hervor del contenido del balón, retire la trampa (G).
15. Titule el contenido con NaOH a 0.01 N hasta alcanzar un color amarillo que persista por mas de 20 segundos.
16. Determine la cantidad de sulfitos en la muestra mediante la siguiente formula:

$$\text{ppm de SO}_2 = 32.03 \times V1 \times N \times 1000 / Wt$$

Donde:

32.03 = miliequivalentes del peso del dióxido de azufre

V1 = volumen de hidróxido de sodio titulante de 0.01 N

N = 0.01, que es la normalidad del NaOH

1000 = factor de conversión de miliequivalentes a microequivalentes

Wt = peso en gramos de la muestra de camarón que fue introducido dentro del balón.

## **PUNTOS CRITICOS EN EL DESARROLLO DE LA PRUEBA**

### **1 Trampa de pyrogallol**

La fuente de gas nitrógeno debe ser de 99.9% de pureza, debido a que si hay contaminación de oxígeno no se capturan los sulfitos reales.

Al agregar la solución de KOH a los 4.5 gramos que se están purgando durante 3 minutos en el erlen meyer debe tornarse transparente y no negro o verde. Cada trampa de pyrogallol puede desarrollar hasta un máximo de ocho pruebas y luego volverse a preparar. A medida se realicen las pruebas la trampa tomara un color oscuro.

### **2 Condensado**

A los 30 minutos de desarrollo de la prueba, con el condensado deben alcanzarse 90 gotas del condensador que caen al interior del balón separador. Estas 90 gotas son reguladas mediante la temperatura de la manta de calor, el flujo de gas nitrógeno y agua a temperatura de 0 a 5 |C.

3 Reactivo certificado grado ACS. Use una pipeta para cada reactivo y no los reutilize.

**ANEXO # 2 MUESTREOS DE TEXTURA DEL EXOESQUELETO DE  
*Litopenaeus vannamei* TOMADOS DE DOCE LAGUNAS COMERCIALES EN  
DIFERENTES FECHAS DURANTE EL 2000, HONDURAS**

# de laguna	Fecha	Fase lunar	Duro	Blandos 1	Blandos 2	Muda
210	17-4-00	luna llena	68%	23%	9%	0%
	19-4-00	luna llena	71%	13%	13%	3%
	22-4-00	cuarto meng.	52%	27%	13%	8%
	24-4-00	cuarto meng.	37%	2%	25%	36%
	28-4-00	cuarto meng.	53%	6%	23%	18%
211	17-4-00	luna llena	67%	20%	13%	0%
	19-4-00	luna llena	68%	6%	11%	6%
	22-4-00	cuarto meng.	58%	12%	18%	12%
	24-4-00	cuarto meng.	48%	10%	28%	14%
	28-4-00	cuarto meng.	41%	24%	23%	12%
	5/5/00	luna nueva	82%	7%	5%	6%
	5/12/00	cuarto crec	68%	4%	16%	12%
	5/19/00	luna llena	72%	4%	17%	7%
212	5/27/00	cuarto meng.	64%	15%	20%	1%
	17-4-00	luna llena	74%	15%	11%	0%
	19-4-00	luna llena	73%	12%	11%	4%
	22-4-00	cuarto meng.	70%	16%	7%	7%
	24-4-00	cuarto meng.	65%	27%	4%	4%
213	28-4-00	cuarto meng.	51%	14%	17%	18%
	17-4-00	luna llena	77%	18%	5%	0%
	19-4-00	luna llena	54%	14%	18%	14%
	22-4-00	cuarto meng.	59%	10%	21%	10%
	24-4-00	cuarto meng.	64%	15%	17%	4%
303	28-4-00	cuarto meng.	55%	10%	21%	14%
	17-4-00	luna llena	82%	10%	8%	0%
	19-4-00	luna llena	64%	15%	10%	11%
	22-4-00	cuarto meng.	42%	8%	13%	37%
	24-4-00	cuarto meng.	60%	21%	14%	5%
201	24-4-00	cuarto meng.	50%	8%	17%	25%
	5/5/00	luna nueva	60%	24%	10%	6%
	12/5/00	cuarto crec	59%	6%	12%	23%
	19-5-00	luna llena	76%	8%	10%	6%
207	27-5-00	cuarto meng.	59%	9%	26%	6%
	5/5/00	luna nueva	48%	14%	20%	18%
	12/5/00	cuarto crec	56%	14%	14%	16%
	19-5-00	luna llena	73%	11%	13%	3%
209	27-5-00	cuarto meng.	56%	2%	27%	15%
	5/5/00	luna nueva	68%	14%	16%	2%
	12/5/00	cuarto crec	53%	20%	16%	11%
	19-5-00	luna llena	68%	15%	3%	14%
220	27-5-00	cuarto meng.	41%	8%	33%	18%
	5/5/00	luna nueva	81%	11%	7%	1%
	12/5/00	cuarto crec	59%	1%	18%	22%
	19-5-00	luna llena	85%	7%	7%	1%
429	27-5-00	cuarto meng.	66%	2%	25%	7%
	5/2/00	luna nueva	81%	14%	4%	1%

	5/8/00	luna nueva	77%	18%	5%	0%
	5/12/00	cuarto crec	41%	33%	18%	8%
	5/15/00	cuarto crec	47%	30%	19%	4%
	5/19/00	luna llena	64%	28%	8%	0%
	5/22/00	luna llena	58%	26%	15%	1%
	5/26/00	cuarto meng.	44%	28%	20%	8%
	5/30/00	cuarto meng.	48%	32%	15%	5%
205	5/2/00	luna nueva	63%	34%	2%	1%
	5/8/00	luna nueva	65%	25%	5%	5%
	5/12/00	cuarto crec	34%	42%	18%	6%
	5/15/00	cuarto crec	36%	40%	21%	3%
	5/19/00	luna llena	67%	22%	10%	1%
	5/22/00	luna llena	62%	24%	14%	0%
	5/26/00	cuarto meng.	52%	28%	12%	8%
	5/30/00	cuarto meng.	41%	37%	16%	16%
302	5/2/00	luna nueva	78%	17%	5%	0%
	5/8/00	luna nueva	67%	29%	4%	0%
	5/12/00	cuarto crec	54%	30%	10%	6%
	5/15/00	cuarto crec	46%	38%	6%	10%
	5/19/00	luna llena	60%	30%	5%	5%
	5/22/00	luna llena	68%	29%	2%	1%
	5/26/00	cuarto meng.	51%	13%	16%	20%
	5/30/00	cuarto meng.	52%	16%	20%	12%
412	5/2/00	luna nueva	51%	38%	11%	0%
	5/8/00	luna nueva	61%	33%	7%	0%
	5/12/00	cuarto crec	50%	33%	10%	7%
	5/15/00	cuarto crec	45%	33%	17%	8%
	5/19/00	luna llena	70%	13%	15%	2%
	5/22/00	luna llena	53%	20%	27%	0%
	5/26/00	cuarto meng.	41%	24%	16%	19%
	5/30/00	cuarto meng.	48%	18%	2%	10%
433	5/2/00	luna nueva	78%	20%	2%	0%
	5/8/00	luna nueva	58%	28%	13%	1%
	5/12/00	cuarto crec	36%	45%	15%	4%
	5/15/00	cuarto crec	42%	39%	12%	7%
	5/19/00	luna llena	67%	29%	12%	0%
	5/22/00	luna llena	65%	22%	14%	0%
	5/26/00	cuarto meng.	61%	16%	10%	13%

	5/30/00	cuarto meng.	51%	12%	16%	21%
		<b>PROM.</b>	<b>59%</b>	<b>19%</b>	<b>14%</b>	<b>8%</b>

# CAMARONES	Duro	Blandos 1	Blandos 2	Muda	
Sumatoria total	5,030	1,638	1,154	670	8,492
Sumatoria 5 lagunas	2,233	1,086	469	213	4,001

**SUMATORIA GENERAL POR FASES**

	Duro	Blandos 1	Blandos 2	Muda
Luna llena	70	16	11	4
Cuarto meng	52	14	20	14
Cuarto Creci	49	25	15	12
Luna nueva	67	21	9	3