



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

Cuantificación de aminoácidos totales y libres en tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*)
a diversas edades; y su movilización a plasma durante treinta días en inanición.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA:

Biol. JULIETA VANESSA GARCÍA SUÁREZ



**Cuantificación de aminoácidos totales y libres en tejido de abulón azul
(*Haliotis fulgens*) a diversas edades y su movilización a plasma durante treinta días
en inanición.**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA
PRESENTA:

Biol. JULIETA VANESSA GARCÍA SUÁREZ

APROBADA POR:



DIRECTORA DE TESIS
Dra. María Teresa Viana Castrillon



SINODAL
Dr. Ernesto Avila González



SINODAL
M.C. Conal David True



SINODAL
Dr. Carlos Vásquez Pelaez

DEDICATORIA

**Con todo mi cariño para mi familia (Papi, Mami, Beku y Godzi).
Segunda etapa cumplida.**

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por haberme facilitado instalaciones y material para el desarrollo de este proyecto.

A CONACYT por otorgarme beca del padrón de excelencia.

A la Dra. María Teresa Viana, directora de tesis por su dedicación, apoyo y amistad que me ha brindado a lo largo de “tantos” años. Confío serán muchísimos más.

A mis sinodales Dr. Carlos Vásquez, M.C. David Conal y Dr. Ernesto Avila por sus observaciones y consejos.

A los M.C. Marco A. González y Roberto Escobar por su ayuda y paciencia.

A mis compañeros y amigos por compartir sus conocimientos y amistad en el laboratorio.

RESUMEN

El presente trabajo trató sobre el contenido de aminoácidos en el abulón y su posible utilización. Con este objetivo se diseñaron dos experimentos diferentes, en el primero se cuantificaron los aminoácidos totales y libres en tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en organismos de cuatro tallas diferentes (3, 5, 7 y 36 cm). Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas en el contenido de los aminoácidos totales y libres presentes en el tejido entre los abulones de estas tallas, por otro lado los valores de aminoácidos totales encontrados en este experimento son comparables a los presentados por otros autores para diferentes especies de abulón. En la segunda parte de este trabajo se cuantificaron los aminoácidos totales y libres presentes en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en organismos de 7 cm expuestos a inanición hasta la obtención de su metabolismo basal. Para esto, se analizaron en tres periodos (tiempo inicial, 7 y 30 días), donde se midió el flujo de aminoácidos libres y glucosa en plasma en 6 diferentes tiempos (tiempo inicial, 24 y 48 horas, 7, 15 y 30 días). Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas en los contenidos de aminoácidos totales y libres en tejido así como tampoco en el flujo de aminoácidos libres en el plasma durante los seis tiempos muestreados. En cuanto al contenido de glucosa en plasma se encontró que los valores disminuyen de 34 $\mu\text{m}/\text{mL}$ en el tiempo inicial a 10 $\mu\text{m}/\text{mL}$ a los 7 días de inanición para después conservarse alrededor de 15 $\mu\text{m}/\text{mL}$ de glucosa en plasma. De los aminoácidos cuantificados en este experimento la taurina en su forma total y libre en tejido ocupó el 45% y el 30% del total de los aminoácidos; y en su forma libre pero en plasma constituyó el 35% del total de los aminoácidos. La similitud de perfiles encontrados a lo largo del tiempo nos indican que estos organismos son capaces de mantener sus niveles de aminoácidos libres durante un período de 30 días en inanición, manteniendo su metabolismo basal donde se presenta una reducción de peso de un 10% utilizando el material de reserva de una manera eficiente.

INDICE GENERAL

	pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	6
III. OBJETIVO	9
IV. METODOLOGÍA	10
Condiciones Experimentales	10
Análisis Químicos	14
Descripción del Sistema "Waters"	18
V. RESULTADOS	22
Experimento I	22
Experimento II	30
VI. DISCUSIÓN	43
VII. CONCLUSIONES	48
VIII. BIBLIOGRAFÍA	49
IX. ANEXOS	52

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Ingredientes presentes en el alimento balanceado.	pag 12
Tabla II. Contenido de aminoácidos presentes en el alimento balanceado.	12
Tabla III. Calendario de la toma de muestras de plasma y sacrificio de los abulones a diferentes tiempos.	13
Tabla IV. Análisis proximal en las muestras de tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en cuatro diferentes tallas.	23
Tabla V. Proteína cruda contenida en las muestras de tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en aminoácidos libres. (promedio en porcentaje)	23
Tabla VI. Valores promedio de Aminoácidos totales expresados en porcentaje respecto al % de proteína contenida en el abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en cuatro diferentes tallas.	25
Tabla VII. Valores promedio de Aminoácidos libres expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en cuatro diferentes tallas.	26
Tabla VIII. ANOVA. Valores en promedio de los aminoácidos totales expresados en 100% de Lisina presentes en el tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en cuatro diferentes tallas.	28
Tabla IX. ANOVA. Valores en promedio de los aminoácidos libres expresados en 100% de Lisina presentes en el tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en organismos de cuatro diferentes tallas.	29
Tabla X. Análisis proximal en las muestras de tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en tres diferentes periodos de inanición.	31
Tabla XI. Proteína cruda contenida en las muestras de tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en aminoácidos libres en tres diferentes periodos de inanición. (promedios en porcentaje con respecto al peso seco del tejido correspondiente)	32
Tabla XII. Proteína soluble y glucosa contenida en las muestras de plasma de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) a diferentes tiempos de inanición. (promedios)	32

Tabla XIII. Valores promedio de Aminoácidos totales expresados en porcentaje respecto al % de proteína contenida en el abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en tres diferentes periodos de inanición.	35
Tabla XIV. Valores promedio de Aminoácidos libres expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en tres diferentes periodos de inanición.	36
Tabla XV. Valores promedio de Aminoácidos libres en plasma expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenida en el plasma de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en seis diferentes periodos de inanición.	37
Tabla XVI. ANOVA Valores en promedio de los aminoácidos totales en tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en tres diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.	39
Tabla XVII. ANOVA Valores en promedio de los aminoácidos libres en tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en tres diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.	40
Tabla XVIII. ANOVA Valores en promedio de aminoácidos libres en plasma de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) en seis diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.	41
Tabla XIX. Valores aproximados de pérdida en el tejido de abulón azul (<i>Haliotis fulgens</i>) durante dos periodos de inanición.	42

I. INTRODUCCION

Las proteínas son el principal constituyente bioquímico de los organismos vivos, consideradas como una de las sustancias más complejas e importantes que deben ser consumidas diariamente en una dieta (Belitz y Grosch, 1987). Estas sustancias desempeñan funciones biológicas en los organismos como la regeneración y formación de tejido, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas, también como constituyente de la sangre además de ser una fuente de energía (De Silva y Anderson, 1995).

Las proteínas contienen un esqueleto de carbón unido con oxígeno e hidrógeno. Se caracterizan por contener nitrógeno con lo cual forman compuestos únicos, también pueden contener como parte de su estructura, azufre, fósforo y hierro. Cada molécula de proteína esta constituida por subunidades llamadas aminoácidos los cuales se caracterizan por tener un grupo amino y un ácido carboxílico (Creighton, 1993). Se conocen más de 140 aminoácidos que se encuentran en distintos tejidos de origen animal, vegetal y microorganismos, pero de éstos solo 20 funcionan como monómeros o constituyentes básicos de las proteínas (Badui, 1999). De estos 20 aminoácidos que constituyen la mayoría de las proteínas 9 o más, no pueden ser sintetizados por los diferentes organismos por lo que deben ser suplementados en el alimento llamándoles aminoácidos esenciales. A diferencia de éstos, se pueden distinguir los aminoácidos limitantes como aquellos que son sintetizados a una menor velocidad de lo que son requeridos. Los restantes corresponden a los denominados aminoácidos no esenciales

los cuales si son sintetizados por el organismo, y además son los más comunes en el alimento.

A través de la dieta, las proteínas suplen la cantidad de aminoácidos necesarios para realizar funciones como crecimiento de tejido y mantenimiento del organismo. Cada proteína se caracteriza por el tipo y secuencia de aminoácidos que la contienen, por lo que la cantidad de proteína suministrada en la dieta debe estar calculada de acuerdo al porcentaje de los aminoácidos esenciales, y no solo de la proteína total (Shimada, 1983). Actualmente se sabe que las diferentes necesidades en cuanto a la cantidad de cada uno de los aminoácidos esenciales dependen del organismo, por lo que es importante cumplir con sus requerimientos para obtener un mayor provecho de la proteína a consumir (Shimada, 1983).

Se considera proteína de alta calidad a aquella que contenga todos los aminoácidos esenciales en niveles altos como los señalados por la FAO/WHO/UNU y si su digestibilidad es comparable o mejor a la obtenida de la proteína de huevo o leche (Fennema, 1996). También se considera que la calidad nutricional de una proteína o una mezcla de proteínas es ideal cuando ésta contiene todos los aminoácidos esenciales en proporción para producir óptimas tasas de crecimiento y óptima capacidad de mantenimiento con un mínimo de pérdida de aminoácidos, incluyendo a los no esenciales. Por esto, es de vital importancia el asegurarse que la proteína empleada en una dieta sea de alta calidad. Existen diferentes métodos para evaluar el contenido nutricional de la proteína utilizada, basándose en la respuesta del organismo a dicho

componente nutricional. Un método es; la Tasa de Eficiencia Proteica (PER). Otro es la Utilización Neta de Proteína (NPU) conocida también como la retención proteica (% PPV), ambos métodos pueden determinar si la fuente de proteína en la dieta fue apropiada.

El otro aspecto importante a considerar además de la calidad de proteína, son los requerimientos totales de la misma por parte del organismo. Se sabe que algunos factores como la edad, madurez, cambios ambientales, calidad del alimento y región geográfica pueden afectar los requerimientos de proteína y aminoácidos. El no administrar los nutrientes adecuados dentro del rango de requerimientos del organismo puede tener como consecuencia que se utilicen las proteínas como fuente energética, lo cual constituye la manera más costosa de proporcionar energía (De Silva y Anderson, 1995). De igual forma si dentro de la dieta se suministra energía no proteica, el organismo tiene diferentes vías para liberar la energía requerida para su metabolismo y crecimiento.

Aunque para abulón no se han realizado gran cantidad de estudios, se sabe que los juveniles requieren de una mayor cantidad de proteína y energía por unidad de peso del cuerpo, porque su tasa de crecimiento es más alta que en adultos (Mercer *et al.*, 1993). Esto concuerda con el hecho de que a mayor edad de los organismos los requerimientos de proteína disminuyen. Durante los periodos de maduración, los abulones en general requieren mas lípidos que proteína para el desarrollo gonadal (Fleming *et al.*, 1996), ya que los lípidos son la principal fuente de la formación de gametos viables.

Las reacciones catabólicas (rompimiento de moléculas) y las reacciones anabólicas (síntesis de moléculas), ocurren dentro del organismo y permiten utilizar los nutrientes para energía y crecimiento. Dentro del organismo los aminoácidos pueden seguir una de tres vías: a) Ser utilizados para la síntesis de proteínas, b) sufrir cambios estructurales para producir otro compuesto o c) ser degradados a energía.

El rompimiento de los aminoácidos está dividido en tres pasos; el primero es la deaminación, la mayoría de los aminoácidos son deaminados por transaminación. El segundo paso es la degradación del esqueleto de carbón, convirtiéndolo en intermediario del ciclo del ácido cítrico o en su precursor. El tercer paso es la incorporación de amoníaco dentro de la urea como producto de desecho.

Dentro del organismo, la síntesis de proteína divide a los aminoácidos en diferentes grupos. El grupo de aminoácidos libres se encuentra tanto en tejido como en plasma, mientras que los aminoácidos totales forman los tejidos estructurales como el músculo. Los aminoácidos provienen de tres fuentes, la principal, de los aminoácidos contenidos en la dieta, la segunda del catabolismo de las proteínas del cuerpo y la tercera a través de la síntesis de aminoácidos no esenciales (De Silva y Anderson, 1995). Se sabe que a través del catabolismo de proteínas se obtienen menos del 50% de los aminoácidos libres que se encuentran en tejido y plasma (De Silva y Anderson, 1995), reflejando que existe un continuo intercambio de aminoácidos, de estar incorporados en las proteínas a estar libres en tejido, o de estar libres en tejido, pasar a plasma y viceversa.

En el cuerpo de los moluscos, encontramos que una proporción grande de materia seca está constituida en general por proteínas (tanto las de tejido, como lo que constituye a los aminoácidos libres). En general el perfil de aminoácidos de los moluscos es similar al observado en los tejidos animales, pero no así su perfil de aminoácidos libres en tejido (Florkin y Bricteux, 1972).

Los organismos acuáticos pueden presentar varias etapas a lo largo de su vida, en las cuales atraviesan por periodos de inanición, estos pueden estar relacionados con reproducción, clima o escasez natural del alimento. Para contrarrestar esto, los organismos acuáticos se han adaptado creando alternativas como, almacenar carbohidratos (glucógeno), proteínas y lípidos durante periodos cuando el alimento es abundante para después utilizarlas cuando éste escasea (Houlihan *et al.*, 2001). El metabolismo realizado por los organismos durante el periodo de inanición depende de diversas variables, tales como: la especie del organismo, el tejido utilizado como almacén de reservas, la cantidad almacenada y su disponibilidad a ser metabolizada por diferentes rutas. En algunas especies estas reservas sirven únicamente para cubrir las necesidades de mantenimiento, mientras que en otras son utilizadas como combustible para la gametogénesis (Navarro y Gutiérrez, 1995).

II. ANTECEDENTES

Al formular una dieta para abulón con base en su proteína ideal, es necesario conocer los requerimientos en cuanto a aminoácidos esenciales y la energía requerida. Una manera simple que ha sido practicada es balancear el alimento en cantidades y proporciones iguales o muy parecidas a las que presenta el tejido del organismo (Fleming. *et al.*, 1996). Sin embargo, resulta necesario conocer el flujo de aminoácidos que está siendo convertido o utilizado metabólicamente, por lo que no constituyen un reflejo directo del perfil de aminoácidos contenidos en los tejidos.

En abulón se han realizado investigaciones de manera general para determinar sus requerimientos nutricionales, pero pocas se han conducido directamente sobre el estudio de los aminoácidos. Mai *et al.* (1994) realizaron un estudio para evaluar el valor nutricional de la proteína contenida en el alimento natural de dos especies de abulón (*H. tuberculata* y *H. discus hannai*), donde determinaron la composición de aminoácidos de 6 especies de algas y de todo el cuerpo blando del abulón, encontrando mediante análisis de correlación que las dos especies tienen requerimientos similares de aminoácidos. Determinaron que la composición de la dieta afecta el perfil de aminoácidos libres en el tejido del animal. Otro estudio realizado por King *et al.* (1996) reportó para el cuerpo blando del abulón adulto, una composición de aminoácidos similar entre organismos de diferentes tallas, coincidiendo con lo reportado por Allen y Kilgore (1975) para el abulón rojo *H. rufescens*; donde los valores de arginina, leucina, lisina, valina y treonina son los que se encuentran en mayor proporción. King *et al.* (1996) proponen balancear

los aminoácidos esenciales de la dieta, considerando a la lisina como el 100%. Ellos mencionan que a pesar de las diferencias en la composición química del abulón; la proporción de aminoácidos en la proteína del cuerpo es relativamente estable, siendo una práctica común para balancear los alimentos en las especies domésticas como cerdos y aves (Church y Pond, 1982).

Britz *et al.* (1996) realizaron un estudio para determinar si la arginina cristalizada y recubierta con una capa de lípidos, puede cubrir los requerimientos de arginina en el abulón, ya que por estudios anteriores, se sabe que la arginina es uno de los aminoácidos que está en mayor proporción en el tejido de abulón, creyéndose sea uno de los limitantes. En este trabajo concluyeron que no es recomendable adicionarla en la dieta de manera cristalizada, ya que parte se pierde por lavado. Otro problema es que el abulón digiere pocas cantidades de grasa, impidiendo destruya la capa que protege al encapsulado, motivos por los cuales no se reflejó su adición en el crecimiento del organismo.

Bewick. *et al.* (1997) realizaron un estudio para determinar las concentraciones de aminoácidos libres y nucleótidos en abulón *Haliotis iris*, alimentados con macroalgas y un alimento balanceado con base de caseína y algas, encontrando que los aminoácidos presentes en mayor proporción son, la arginina, ácido glutámico y taurina, estando esta última en mayor concentración con el 50% del total de los aminoácidos libres encontrados, concluyendo que los alimentos balanceados, utilizados en este estudio

cubrían los requerimientos nutricionales necesarios para mantener niveles altos de energía y una adecuada composición de aminoácidos.

Carefoot *et al.* (1993) realizaron un estudio para determinar el efecto de la inanición sobre las reservas energéticas y metabolismo en el abulón (*Haliotis kamtschatkana*) midiendo glucosa en sangre, glucógeno en tejido y consumo de oxígeno durante 30 días de inanición. Comparando sus resultados contra un grupo control, observaron una disminución en el contenido de glucosa después del sexto día, manteniendo una concentración baja por el resto del tiempo, el consumo de oxígeno aumento los primeros días, para después disminuir. Concluyen que 30 días de inanición no son suficientes para debilitar o causar una pérdida significativa en el peso de los organismos, los cuales mantuvieron su tasa metabólica basal, retornando rápidamente a su valor normal al ser alimentados.

En el abulón, aún no se han realizado estudios donde la información obtenida sirva para determinar los requerimientos totales de aminoácidos, impidiendo balancear dietas con una cantidad dada de proteínas que pueda ser optimizada al máximo con un mínimo de pérdida. El papel de la proteína como fuente alimenticia en moluscos durante la inanición requiere investigación, particularmente la fuente de proteína y el mecanismo del catabolismo, razón por la cual, este trabajo esta enfocado a determinar los aminoácidos presentes en el abulón azul (*Haliotis fulgens*) así como inferir que aminoácidos son esenciales y limitantes a través de su flujo en plasma durante un periodo de inanición.

III. OBJETIVOS

- Determinar los aminoácidos totales y libres presentes en el tejido de abulón en organismos de diferentes tallas, y encontrar si existen diferencias en el contenido de los mismos a distintas edades.
- Determinar los aminoácidos totales y libres presentes en el tejido de abulón, el flujo de aminoácidos libres en plasma, así como la movilización de aminoácidos del tejido a aminoácidos libres de tejido y de estos hacia aminoácidos libres en plasma durante un periodo de inanición.
- Reconocer los aminoácidos esenciales y limitantes para el abulón azul (*Haliotis fulgens*)

IV. METODOLOGÍA

Condiciones Experimentales

Organismos

Abulones de la especie (*Haliotis fulgens*) obtenidos de la granja BC Abalone S.A. de C.V. ubicada en el Ejido Eréndira, Ensenada, B. C. Se recibieron 2 lotes de organismos para los experimentos. El primero consistió en un grupo de 2 adultos (359.5 ± 0.45 mm con 973.10 ± 4.60 g) y 3 grupos de 3 abulones con diferentes tallas (30.5 ± 0.68 mm y 3.60 ± 0.30 g; 50.9 ± 0.55 mm y 15.11 ± 0.41 g; 71.8 ± 1.38 mm y 44.41 ± 0.82 g).

Para el segundo experimento se obtuvo un lote de 20 organismos juveniles con talla de 65.15 ± 0.66 mm con 37.21 ± 1.20 g.

Experimento I

Con el objeto de encontrar si existe alguna relación entre la talla del organismo y el contenido de aminoácidos totales y libres en el tejido de abulón se utilizaron organismos con 4 tallas distintas como se indicó arriba.

Los dos organismos adultos se consiguieron congelados, manteniéndose a -80°C hasta el análisis. Los restantes 9 abulones se mantuvieron en cubetas con flujo de aire y agua constante y sin alimento durante 3 días para eliminar el contenido estomacal. Posteriormente los organismos se midieron con un verniere digital (± 0.03 mm) y se

pesaron con una balanza electrónica (± 0.001 de error). Finalmente se sacrificaron por choque térmico, esto se provocó introduciéndolos al ultracongelador a -80°C . Los abulones se marcaron y empaquetaron para mantenerse congelados hasta su posterior análisis de aminoácidos.

Experimento II

Con el fin de determinar el flujo de los aminoácidos libres contenidos en plasma y los aminoácidos libres y totales contenidos en tejido, los organismos fueron alimentados durante 3 semanas con alimento balanceado, y posteriormente puestos en inanición durante 30 días tomando muestras de plasma y tejido a diversos tiempos.

1) Alimento Balanceado

El alimento balanceado se elaboró mezclando los ingredientes señalados en la Tabla I, los cuales están basados en las recomendaciones de Viana (1996). La mezcla de vitaminas y minerales fue la recomendada por Hahn (1989). Todos los ingredientes fueron homogeneizados en un mezclador Robot Coupe® para después formar las tiras de alimento utilizando un extrusor en frío Rosito Bisanti®. Las tiras fueron cortadas para obtener hojas de $1 \times 2 \times 0.2$ cm. El alimento se mantuvo congelado a -20°C . El análisis proximal realizado al alimento determinó que el $44.63 \pm 0.70\%$ pertenece al contenido de proteína cruda, el $6.36 \pm 0.62\%$ corresponde al contenido de lípidos, el $13.29 \pm 0.05\%$ es de cenizas y finalmente el $35.79 \pm 0.05\%$ pertenece al extracto libre de nitrógeno el cual es obtenido por diferencia de los tres anteriores. También se determinó el contenido de aminoácidos en la dieta (Tabla II)

Tabla I. Ingredientes presentes en el alimento balanceado.

Ingredientes	%
Harina de pescado	30
Harina de soya	10
Harina de <i>Macrocystis sp.</i>	12
Harina de maíz	12
Almidón modificado	10
Almidón de maíz	9.2
Ensilaje de pescado	5.5
Minerales	3.3
Vitaminas	1.3
Vitamina "C"	0.4
Benzoato de Na	0.23
Cloruro de Colina	0.11
BTH	0.08
Gelatina	6
Total	100

Tabla II. Contenido de aminoácidos presentes en el alimento balanceado.

Aminoácido	%	% de Lisina
Lisina	3.40	100
Aspargina	3.88	114
Serina	2.41	71
Acido glutámico	5.59	164
Glicina	3.76	110
Histidina	1.71	50
Arginina	2.82	83
Treonina	1.86	54
Alanina	3.44	101
Prolina	2.60	76
Tirosina	1.40	42
Valina	2.30	67
Metionina	1.44	42
Isoleucina	2.07	61
Leucina	3.44	101
Fenilalanina	2.32	68

2) Diseño Experimental

Para el experimento se utilizaron 20 abulones de 3 años de edad con 65.15 ± 0.667 mm y 37.12 ± 1.20 g. Los organismos se midieron con un verniere electrónico digital (± 0.03 mm) y se pesaron con una balanza electrónica (± 0.001 de error). Se marcaron individualmente con número y letra y fueron mantenidos en grupos de 4 utilizando 5 cubetas plásticas de 5 litros de capacidad con flujo de aire y agua constante. El alimento se suministró diariamente ad libitum (5% de su peso) por la noche y retirando el sobrante al otro día por la mañana, lavándose las cubetas. Diecisiete días después los organismos se volvieron a medir y pesar.

Al 17vo día se registró un incremento en peso de 1.65 ± 1.05 g y posterior a esto se inició la segunda fase del experimento que comprende un periodo de inanición de 30 días durante los cuales a los 20 organismos se les tomaron muestras individuales de $100 \mu\text{L}$ de plasma en 6 diferentes tiempos (Tabla III). La extracción de plasma se realizó directamente en la cavidad celómica, lugar donde está ubicado el corazón, mediante una jeringa hipodérmica para insulina de 1 mL. Para los tiempos (inicial, 7 días y 30 días) de la toma de plasma un organismo por cubeta fue pesado, medido y posteriormente sacrificado. Las muestras de plasma y los organismos individualmente marcados se congelaron hasta su posterior análisis.

Tabla III. Calendario de la toma de muestras de plasma y sacrificio de los abulones a diferentes tiempos.

Tiempo	Tiempo cero	24 horas	48 horas	7 días	15 días	30 días
Muestras de plasma	♣	♣	♣	♣	♣	♣
Sacrificio abulones	♣	♣	♣	♣	♣	♣

Análisis Químicos

Preparación de las muestras de tejido

Las muestras de tejido de abulón fueron liofilizadas a -80°C durante 72 horas. El tejido seco se colocó en un molino The Straub Company® para obtener un polvo fino, el cual fue tamizado con malla Nitex de $221.4\mu\text{m}$. A continuación parte de las muestras fueron desengrasadas por el Método Soxhlet (A.O.A.C., 1990) con éter de petróleo durante 5 horas. Por último las muestras se secaron durante 2 horas a 60°C en estufa de vacío Aquaroid. Lab-Line.

Análisis Proximal

Para determinar la cantidad de cada aminoácido presente en las muestras, se obtuvo el contenido de proteína cruda en las muestras de tejido seco (proteína y aminoácidos totales en tejido) y para los aminoácidos libres en tejido, se realizó una extracción con alcohol cuyo extracto obtenido en líquido fue analizado y reportado con respecto al peso del tejido utilizado para la extracción. En ambos casos se utilizó el método Microkjeldahl (A.O.A.C., 1990), el cual se basa en la combustión de la muestra con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores para reducir el nitrógeno orgánico a amoníaco. La proteína cruda se calculó al multiplicar el porcentaje total de nitrógeno por el factor 6.25. Se utilizaron 50 mg de muestra por triplicado y 1 mL de extracción para la proteína correspondiente a los aminoácidos libres en el tejido.

La cantidad de lípidos totales se determinó en las muestras de tejido de abulón mediante la extracción de Metanol–Cloroformo (Bligh y Dyer, 1959) la cual se basa en la homogeneización del tejido húmedo con metanol y cloroformo en proporción tal que se forma una sola fase miscible con el agua y el tejido. Al agregar mayores cantidades de cloroformo y agua, se separan dos fases con el material lipídico contenido en la capa de cloroformo. Se utilizaron 100 mg de muestra seca por duplicado. Los lípidos se calcularon graviméricamente.

Para la evaluación de cenizas, se calcinaron 200 mg de tejido de abulón por duplicado, a 550 °C en mufla durante 4 horas, el porcentaje se calculó con base en el peso constante de la ceniza remanente.

El extracto libre de nitrógeno se calculó por la diferencia al ajustar a 100% la suma de los tres análisis anteriores sin calcular la fibra cruda.

Hidrólisis de las Muestras de Tejido

En tubos de ensaye (pyrex) se colocaron 25 mg de muestra seca de tejido de abulón y se agregaron 2 mL de una solución 6N de HCl + fenol 0.06%. Los tubos fueron cerrados circulando nitrógeno para mantener una atmósfera libre de oxígeno dentro de ellos. Una vez cerrados los tubos se sometieron a calentamiento a 110°C durante 24 horas. Las muestras fueron evaporadas en una atmósfera de nitrógeno hasta sequedad. Posteriormente las muestras fueron rehidratadas en agua desionizada para después aforarlas a un volumen de 50 mL. De este volumen se tomaron alícuotas de

2mL las cuales fueron filtradas a 0.45 μm . Estos filtrados fueron almacenados en microviales (Waters) y refrigerados a 4°C hasta su posterior análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) sistema Waters, AccQ•Tag™ (Waters, 1993) como se explica en el apartado “Descripción del Sistema Waters”

Precipitación de Proteína en Tejido

Para valorar los aminoácidos libres en tejido, se procedió a precipitar la proteína del tejido colocando 25 mg de muestra seca de tejido de abulón en tubos Eppendorf para agregar 1.5 mL de Etanol al 70% (Manahan comunicación personal)¹. La mezcla se homogeneizó y se dejó en reposo a 4°C durante 24 horas. Posteriormente se centrifugó a 10°C y 16000 g durante 5 minutos, alícuotas de 1 mL fueron extraídas del sobrenadante las cuales contienen los aminoácidos libres. Estas alícuotas fueron almacenadas en microviales (Waters) y refrigeradas a 4°C hasta su posterior análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) de igual manera como se indica posteriormente.

Precipitación de Proteína en Plasma

Para las muestras de plasma se tomaron 20 μL colocándolos en tubos Eppendorf para añadir 200 μL de Etanol al 70%. La mezcla se homogeneizó y se dejó en reposo a 4°C durante 24 horas. Posteriormente se centrifugó a 10°C a 16000 g durante 5 minutos, alícuotas de 100 μL fueron extraídas del sobrenadante, las cuales contienen los aminoácidos libres. Las alícuotas se almacenaron en microviales (Waters) y se

¹ Donald Manahan; manahan@usc.edu.

refrigeraron a 4°C hasta su posterior análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) de igual manera como se indica posteriormente.

Determinación de Proteína soluble y Glucosa en Plasma

Para determinar el contenido de proteína en plasma se utilizó el método de Lowry *et al.* (1951) expresado como mg de proteína equivalente de suero de albúmina de bovino (SAB)/ mL de plasma. Se utilizaron 10 μ L de muestra. Cada muestra se corrió por triplicado.

El contenido de glucosa en plasma se midió utilizando un kit de diagnóstico Sigma Glucosa Blinder 500, expresado como μ g de glucosa/mL de plasma. Se utilizaron 15 μ L de muestra analizando entre 5 y 8 repeticiones por tiempo.

Descripción del Sistema "Waters"

Para el análisis de aminoácidos se empleó un sistema HPLC modelo Waters AccQ•TagTM, utilizando el método AccQ•Tag. (Waters, 1993).

En la fase estacionaria se utilizó una columna AccQ•Tag "Amino Acid Analysis Column" de fase inversa 4 μm Nova PakTM C-18 de 3.9 mm x 150 mm embebida en acetonitrilo / agua (50% / 50%).

Para la detección de aminoácidos se utilizó un detector Waters 474 de fluorescencia, la fuente de luz es una lámpara de Xenón de 150 W, la longitud de onda de excitación es de 250 nm y la longitud de onda de emisión es de 395 nm.

El método AccQ•Tag de Waters está basado en el desarrollo de un derivatizador específico para el análisis de aminoácidos. El AccQ•Fluor Reagent (6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, o AQC) el cual es una nueva clase de compuesto amino-derivatizador. El AQC reacciona rápidamente con aminoácidos primarios y secundarios produciendo urea altamente estable que fluoresce fuertemente a 395 nm. Los productos derivatizados son estables por una semana a temperatura ambiente.

El kit AccQ•Fluor Reagent se adquirió de Waters, consta de tres compuestos. El AccQ•Fluor buffer de Boratos, al agregarlo a la muestra actúa creando un ambiente de pH propicio para la derivatización. El AccQ•Fluor Reagent Powder que es el 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) o agente derivatizador y por

último el AccQ•Fluor Reagent Diluent el cual es acetonitrilo, este último se agregó al anterior para formar un solo compuesto que es el agente reconstituyente para derivatizar.

Preparación de Eluentes

Eluente A: En 2 litros de agua grado HPLC se agregó 200 mL de Eluente A, el cual contiene solución acuosa + buffer de Boratos. Se mezcló y filtró a vacío con filtro de 0.45 μm .

Eluente B: En 600 mL de acetonitrilo se añadió 400 mL de agua grado HPLC, se mezcló y filtró a vacío con filtro de 0.45 μm .

Ambas soluciones se prepararon el día que se corrieron las muestras. Tienen un periodo de vida de 1 mes.

Estándar y Curva de Calibración

Los estándares de aminoácidos se adquirieron del kit de Pearce, en una presentación de 10 ampollitas de 1 mL con una concentración de 2.5 mM de cada aminoácido, disueltos en 0.1 N de HCl. Para elaborar la curva de calibración se eligieron tres concentraciones diferentes, cubriendo un rango de 12.5 a 75 pmol. Estando estas relacionadas con la concentración de las muestras.

Estándar Interno

Para asegurar la concentración de los estándares se recomienda la utilización de estándares internos, los cuales se adicionan en la misma concentración a las diferentes

diluciones de los estándares y en las muestras. En este caso se utilizó α - ácido aminobutírico a una concentración de 2.5 mM.

Parámetros Iniciales de la Cromatografía

Se refiere a las condiciones iniciales del sistema, mismas que se mantuvieron al inicio de cada análisis y pueden resumirse de la siguiente manera:

Flujo:	1.0	mL / min.
Solvente A:	100.0	0.0 % fase móvil A
Solvente B:	0.0	0.0% fase móvil B
Temperatura:	37.0	37.0 °C.
Presión Max.:	4000	psi
Presión Min.:	0.0	psi
Tiempo total:	50.00	0.0 min.

Preparación de la Inyección

1. En un vial se colocaron 70 μ L de AccQ•Fluor Buffer de Boratos + 10 μ L de muestra problema + 20 μ L de AccQ•Fluor Derivatizador.
2. Se agitó con Vortex por 10 segundos y se dejó reposar 1 minuto.
3. Se calentó el vial en una plancha Pierce a 55°C por 10 minutos.
4. Se enjuagó la jeringa con agua grado HPLC.
5. Se tomaron 5 μ L de la muestra y se inyectó al analizador de aminoácidos Waters AccQ•TagTM.

El tiempo de corrida es de 50 min. por muestra.

Análisis Estadístico.

Con los datos crudos del análisis proximal se realizó estadística descriptiva para obtener promedios, medias, desviaciones estándar y errores estándar.

Como siguiente paso se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para las muestras de aminoácidos totales y libres de tejido, así como también para las muestras de aminoácidos libres en plasma. El paquete estadístico de Sigma Stat fue utilizado para realizar los análisis estadísticos.

V. RESULTADOS

Experimento I

Análisis Proximal

El análisis proximal realizado a las muestras de tejido de abulón, mostró que el contenido de proteína fue menor ($P=0.018$) para los adultos (36cm) mientras que las demás tallas fueron iguales entre sí. En lípidos, los grupos de 7 y 36 cm fueron significativamente mayores ($P=0.002$) que el resto, mientras que en las cenizas los mismos grupos (7 y 36 cm) fueron menores ($P<0.001$). No se encontraron diferencias en el Extracto Libre de Nitrógeno entre los diversos grupos (Tabla IV).

El extracto de proteína obtenido para la precipitación de aminoácidos libres contenidos en el tejido de abulón, mostró que solo el grupo de 5 cm fue significativamente menor en el contenido de proteína total equivalente (Tabla V) mientras que el resto no mostró ninguna variación.

Tabla IV. **Análisis Proximal** en las muestras de tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*). en cuatro diferentes tallas.

Talla de los organismos	Experimento I				ANOVA	
	3 cm n=3	5 cm n=3	7 cm n=3	36 cm n=2	P	F
Proteína cruda	77.00 ^a ±2.66	74.86 ^a ±3.13	75.53 ^a ±4.21	64.19 ^b ±0.63	0.018	6.664
Lípidos	2.69 ^b ±0.04	2.68 ^b ±0.18	3.10 ^a ±0.05	3.11 ^a ±0.01	0.002	15.799
Cenizas	12.52 ^b ±0.37	12.56 ^b ±0.42	11.18 ^c ±0.65	29.27 ^a ±0.23	<0.001	24.485
ELN	9.56 ^a ±2.47	9.90 ^a ±3.39	10.19 ^a ±4.90	3.43 ^a ±0.85	0.217	1.906

Proteína cruda expresada como N x 6.25

Superíndices diferentes indican diferencias significativas

Tabla V. **Proteína Cruda** contenida en las muestras de tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en aminoácidos libres. promedio en porcentaje

Talla de los organismos	Experimento				ANOVA	
	3 cm n=3	5 cm n=3	7 cm n=3	36 cm n=2	p	F
Proteína cruda en tejido. (aa. libres)	18.89 ^a ±0.62	15.15 ^b ±2.36	18.45 ^a ±0.00	18.45 ^a ±0.00	0.021	9.706

Proteína cruda expresada como N x 6.25

Superíndices diferentes indican diferencias significativas

Determinación de Aminoácidos

En el tejido de abulón se determinó la presencia de los siguientes aminoácidos totales y libres; lisina, aspargina, serina, ac. glutámico, glicina, histidina, taurina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, isoleucina, leucina y fenilalanina, donde la taurina fue el aminoácido que mostró los niveles más altos correspondiendo al 44.47, 43.10 y 44.58% del total encontrado para las tallas de 5, 7 y 36 cm, respectivamente y el 27.33% para la talla de 3 cm. Sin embargo, en el perfil de aminoácidos libres del extracto del tejido, este mismo aminoácido, la taurina, constituyó el 36.94, 33.99 y 39.89% para las tallas de 3, 5 y 7 cm y el 52.22% para la talla de 36 cm. Por otro lado en aminoácidos totales los valores más bajos encontrados fueron para metionina con 1.57, 1.10, 1.06 y 1.35% y para histidina con 1.55, 1.14, 1.19 y 1.21% ambos valores respectivamente para las tallas de 3, 5, 7 y 36; La fenilalanina en las tallas de 3 y 5 cm con 1.05%, el 0.72 y 1.82% para las tallas de 7cm y 36 cm del total encontrado; coincidiendo estos valores con su concentración en el extracto de tejido para aminoácidos libres, resultando para metionina de 0.13, 0.75 y 0.33% para las tallas de 3, 7 y 36 cm, respectivamente y de 2.72% para 5 cm; para histidina fueron de 0.16, 0.59 y 0.19% para 3, 5 y 36 cm, respectivamente y de 1.45% para 7 cm. Finalmente la fenilalanina representó el 1.12 y 1.57% para las tallas de 5 y 36 cm, respectivamente y de 2.25 y 2.55% para las tallas 3 y 7 cm, respectivamente. Los perfiles de aminoácidos expresados con relación al % de proteína contenida en el tejido para aminoácidos totales y libres se muestran en las Tablas VI y VII respectivamente.

Tabla VI. Valores promedio de Aminoácidos Totales expresados en porcentaje respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en cuatro diferentes tallas.

Aminoácidos	3 cm	5 cm	7 cm	36 cm
	n=3	n=3	n=3	n=3
	%	%	%	%
Lisina	3.73	3.93	3.84	3.48
Aspargina	5.55	5.23	5.31	6.25
Serina	3.12	2.85	2.98	3.42
Ac. glutámico	7.43	7.76	7.89	7.89
Glicina	5.19	4.29	4.25	4.64
Histidina	1.37	1.38	1.40	1.39
Taurina	25.08	53.67	50.27	50.77
Arginina	5.88	6.00	5.69	5.12
Treonina	2.75	2.82	2.73	3.18
Alanina	2.19	2.79	2.69	2.67
Prolina	3.09	2.73	2.59	3.34
Tirosina	1.89	1.78	1.77	2.20
Valina	2.45	2.45	2.26	2.42
Metionina	1.49	1.35	1.25	1.58
Isoleucina	13.10	15.99	16.53	10.28
Leucina	4.21	4.35	4.05	3.34
Fenilalanina	1.04	1.34	0.85	2.12

Tabla VII. Valores promedio de Aminoácidos Libres expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en cuatro diferentes tallas.

Aminoácidos	3 cm	5 cm	7 cm	36 cm
	n=3	n=3	n=3	n=2
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
Lisina	1.27	0.83	0.92	1.66
Aspargina	0.02	0.26	0.32	1.46
Serina	0.04	0.26	0.72	1.26
Ac. glutámico	0.42	1.03	1.44	1.78
Glicina	0.62	0.87	0.50	1.58
Histidina	0.04	0.09	0.33	0.11
Taurina	10.58	6.82	10.52	28.62
Arginina	1.22	0.80	0.35	2.07
Treonina	0.09	0.17	0.23	1.28
Alanina	0.54	0.79	1.18	0.86
Prolina	0.16	0.39	0.56	1.06
Tirosina	0.20	0.10	0.12	0.00
Valina	3.15	2.67	1.15	4.40
Metionina	0.04	0.48	0.18	0.19
Isoleucina	5.40	2.10	3.91	6.10
Leucina	1.03	0.67	1.20	1.51
Fenilalanina	0.52	0.21	0.62	0.87

El contenido de aminoácidos totales según el análisis de varianza de una vía para la concentración en el tejido de abulón, mostró que entre las diferentes tallas, catorce de los analizados no mostraron diferencias significativas ($P>0.05$) y solo tres si presentaron. El contenido de serina mostró ser mayor ($P=0.021$) para la talla de 36 cm mientras que los tres restantes permanecieron similares. En la taurina la diferencia significativa ($P=0.019$) se presentó en la talla de 3 cm a la cual le corresponde el menor contenido con respecto a las tres tallas restantes. Finalmente para la prolina las diferencias significativas ($P=0.004$) se presentan entre tres tallas, donde el valor mayor corresponde a la talla de 36 cm y el menor a la talla de 3 cm siendo intermedios los valores de las tallas de 7 y 5 cm respectivamente (Tabla VIII).

El análisis de varianza de una vía realizado para los aminoácidos libres mostró que no hay diferencias significativas ($P>0.05$) entre las diferentes tallas para trece de estos y solo cuatro si las presentaron. Asparagina mostró diferencias ($P=0.041$) entre las tallas de 36 y 3 cm con el valor mayor y menor respectivamente, mientras que las tallas de 5 y 7 cm presentan valores intermedios; la histidina presento diferencias significativas ($P=0.031$) entre los valores mayor y menor correspondientes a las tallas de 7 y 3 cm respectivamente, manteniéndose similares los valores para las tallas de 5 y 36 cm. Para metionina las diferencias ($P=0.031$) se presentaron entre las tallas de 5 y 3 cm, la primera con el más alto y la segunda con el más bajo, teniendo las tallas de 7 y 36 cm valores intermedios similares entre ellas. Finalmente la fenilalanina presentó diferencias ($P=0.044$) teniendo el valor mayor la talla de 7 cm y la talla de 5 cm el valor más bajo, presentando valores intermedios las tallas de 3 y 36 cm (Tabla IX).

Tabla VIII. ANOVA. Valores en promedio de los Aminoácidos Totales expresados en 100% de Lisina presentes en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*), en cuatro diferentes tallas.

Aminoácidos	3 cm	5 cm	7 cm	36 cm	ANOVA	
	n=3	n=3	n=3	n=3	F	P
	%	%	%	%		
Lisina	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	3.238	0.6553
Aspargina	148 ^a	133 ^a	139 ^a	177 ^a	3.829	0.057
Serina	83 ^b	73 ^b	78 ^b	98 ^a	6.330	0.021
Ac. glutámico	191 ^a	198 ^a	207 ^a	226 ^a	3.712	0.294
Glicina	135 ^a	111 ^a	111 ^a	139 ^a	1.261	0.359
Histidina	38 ^a	36 ^a	37 ^a	42 ^a	0.622	0.574
Taurina	672 ^c	1386 ^{ab}	1317 ^{ab}	1563 ^a	6.521	0.019
Arginina	154 ^a	154 ^a	149 ^a	151 ^a	0.0613	0.979
Treonina	74 ^a	73 ^a	72 ^a	91 ^a	3.858	0.064
Alanina	63 ^a	71 ^a	70 ^a	78 ^a	0.706	0.578
Prolina	82 ^b	70 ^{bc}	68 ^{bc}	97 ^a	11.423	0.004
Tirosina	51 ^a	46 ^a	46 ^a	63 ^a	4.502	0.046
Valina	64 ^a	62 ^a	59 ^a	70 ^a	1.535	0.288
Metionina	38 ^a	34 ^a	33 ^a	43 ^a	1.012	0.443
Isoleucina	424 ^a	420 ^a	443 ^a	375 ^a	0.0303	0.992
Leucina	112 ^a	112 ^a	105 ^a	99 ^a	1.286	0.352
Fenilalanina	25 ^a	31 ^a	22 ^a	57 ^a	1.715	0.250

Superíndices diferentes indican diferencias significativas.

Superíndice a= valor mayor

Tabla IX. ANOVA. Valores en promedio de los Aminoácidos Libres expresados en 100% de Lisina presentes en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*), en organismos de cuatro diferentes tallas.

Aminoácidos	3 cm	5 cm	7 cm	36 cm	ANOVA	
	n=3	n=3	n=3	n=2	F	P
	%	%	%	%		
Lisina	100.00	100.00	100.00	100.00	3.238	6553
Aspargina	1.00 ^b	36.0 ^{ab}	35.33 ^{ab}	88.00 ^a	7.779	0.012
Serina	3.00 ^a	37.67 ^a	79.67 ^a	76.00 ^a	6.899	0.075
Ac. Glutámico	36.33 ^a	134.00 ^a	156.67 ^a	107.50 ^a	7.348	0.062
Glicina	48.00 ^a	109.00 ^a	54.67 ^a	95.00 ^a	2.153	0.182
Histidina	3.00 ^b	12.33 ^b	35.67 ^a	7.00 ^b	12.229	0.0004
Taurina	1027.3 ^a	904.33 ^a	1172.67 ^a	1725.00 ^a	0.367	0.779
Arginina	116.00 ^a	88.33 ^a	38.33 ^a	125.00 ^a	0.877	0.498
Treonina	7.67 ^a	23.00 ^a	25.33 ^a	77.00 ^a	4.832	0.185
Alanina	46.67 ^a	99.00 ^a	127.67 ^a	52.00 ^a	4.329	0.050
Prolina	14.67 ^a	52.33 ^a	62.00 ^a	64.00 ^a	4.086	0.057
Tirosina	16.33 ^a	12.00 ^a	13.33 ^a	0.00 ^a	2.374	0.156
Valina	260.00 ^a	336.67 ^a	126.67 ^a	265.00 ^a	4.036	0.059
Metionina	4.67 ^a	63.67 ^b	20.00 ^{ab}	11.00 ^{ab}	8.884	0.031
Isoleucina	445.00 ^a	249.67 ^a	423.67 ^a	368.00 ^a	1.815	0.232
Leucina	74.67 ^a	84.33 ^a	130.67 ^a	91.00 ^a	2.993	0.105
Fenilalanina	42.67 ^b	24.67 ^b	67.33 ^a	52.00 ^b	4.595	0.044

Superíndices diferentes indican diferencias significativas.

Superíndice a= valor mayor

Experimento II

Análisis Proximal

El análisis proximal realizado a las muestras de tejido de abulón durante los tres periodos de inanición seleccionados (inicio, 7 y 30 días) mostró que no existen diferencias significativas en el contenido porcentual de proteína cruda ($P=0.051$) y extracto libre de nitrógeno ($P=0.421$) mientras que en lípidos y ceniza sí se presentan ($P<0.05$), siendo mayores a los 30 días. En el contenido de lípidos los organismos del tiempo inicial (t_0) y 7 días (t_3) de inanición tienen una diferencia del 41.60% con respecto a los organismos de 30 días de inanición. Para el contenido de ceniza nuevamente los organismos del tiempo inicial (t_0) y 7 días (t_3) de inanición presentaron diferencia del 12.21% con respecto a los organismos de 30 días de inanición (Tabla X).

El contenido de proteína total presente en los aminoácidos libres con respecto al peso del tejido de abulón sí presentó diferencias significativas ($P<0.05$) siendo mayor en el tiempo inicial con 18% proteína cruda bajando hasta el 14.5 y 14.6% para los periodos de 7 (t_3) y 30 (t_5) días de inanición, respectivamente, diferencia que corresponde a un 21%. (Tabla XI).

En las muestras de plasma el contenido de proteína soluble presentó diferencias significativas ($P<0.05$) para el tiempo inicial (t_0) contra los tiempos 24 horas (t_1) y 7 días (t_3), los tiempos restantes que son 48 horas (t_2), 15 días (t_4) y 30 días de inanición no presentaron diferencias significativas entre ellos. (Tabla XII).

El contenido de glucosa presente en las muestras de plasma fue de $34 \pm 1.67 \mu\text{g/mL}$ de plasma para el tiempo inicial, concentración que disminuyó paulatinamente conforme avanzó el periodo de inanición, presentando los siguientes valores $23 \pm 3.59 \pm 1.67$ y $22.1 \pm 4.34 \mu\text{g/mL}$ para las 24 y 48 primeras horas de inanición continuando con valores de 18 ± 1.50 , 15.1 ± 1.60 y $15.6 \pm 1.01 \mu\text{g/mL}$ para los 7, 15 y 30 días de inanición respectivamente.

Tabla X. Análisis Proximal del tejido contenido en las muestras de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición.

	Experimento II			ANOVA	
	inicial n=5	7 días n=5	30 días n=5	P	F
Porcentaje de proteína cruda en tejido.	70.20 ^a ± 15.02	76.68 ^a ± 10.14	70.36 ^a ± 8.34	0.611	0.514
Lípidos	1.46 ^b ± 0.37	1.46 ^b ± 0.24	2.50 ^a ± 0.60	0.003	9.669
Cenizas	9.96 ^b ± 0.92	9.91 ^b ± 0.64	11.31 ^a ± 0.50	0.013	6.300
ELN	18.36 ^a ± 14.66	11.94 ^a ± 11.94	15.82 ^a ± 15.82	0.665	0.421

Proteína cruda expresada como N x 6.25

Superíndices diferentes indican diferencias significativas.

Tabla XI. **Proteína Cruda** contenida en las muestras de tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en aminoácidos libres en tres diferentes periodos de inanición promedios en porcentaje con respecto al peso seco del tejido correspondiente.

Talla de los organismos	Experimento			ANOVA	
	tiempo cero n=5	7 días n=5	30 días n=5	P	F
Proteína cruda en tejido. (aa. libres)	18.45 ^a ±0.00	14.50 ^b ±2.47	14.63 ^b ±1.50	0.004	9.046

Proteína cruda expresada como N x 6.25

Subíndices diferentes indican diferencias significativas

Tabla XII. **Proteína Soluble*** y **Glucosa** contenida en las muestras de plasma de abulón azul (*Haliotis fulgens*) a diferentes tiempos de inanición. promedios

Tiempo	t0	t1	t2	t3	t4	t5	ANOVA	
	0	24h	48h	7días	15 días	30 días	P	F
mg de proteína/mL de proteína en plasma	3.33 ^a ±0.241	2.35 ^b ±0.528	2.64 ^a ±0.331	2.40 ^b ±0.356	2.80 ^a ±0.447	2.60 ^a ±0.224	0.001	37.20
µg glucosa /mL en plasma	34.00 ^a ±1.87	23.33 ^b ±3.93	22.12 ^b ±4.64	18.0 ^c ±1.69	15.16 ^c ±1.16	15.60 ^c ±1.14	>0.001	30.56

Proteína soluble expresada como proteína equivalente de suero de albúmina de bovino (SAB)/ mL de plasma.

Superíndices diferentes indican diferencias significativas.

Determinación de Aminoácidos

En este experimento se determinó la presencia de aminoácidos totales y libres en tejido de abulón a lo largo de tres diferentes tiempos de inanición (t_0 , t_3 y t_5). Encontrando los siguientes aminoácidos: lisina, asparagina, serina, ac. glutámico, glicina, histidina, taurina, arginina, treonina, alanina, prolina, tirosina, valina, metionina, isoleucina, leucina y fenilalanina, donde la taurina fue el aminoácido que mostró los valores más altos en los aminoácidos totales, siendo estos del 44.98, 44.46 y 45.86% respectivamente para los tres periodos de inanición muestreados (tiempo cero, 7 y 30 días), de igual forma en los aminoácidos libres la taurina presentó los valores más altos siendo estos del 33.82, 23.15 y 34.18% para el tiempo inicial, 7 y 30 días respectivamente. La histidina presentó los valores más bajos en los aminoácidos totales y en los aminoácidos libres, siendo de 1.35, 1.32 y 1.12% para los primeros y del 0.61, 0.55 y 0.37% para los segundos durante el periodo inicial, a los 7 y 30 días de inanición respectivamente; para la metionina los valores en aminoácidos totales fueron del 1.89, 2.03 y 1.18% para los tres periodos de inanición. La isoleucina presentó valores también altos en los aminoácidos libres con valores de 19.40, 22.39 y 18.61% respectivamente para cada periodo de inanición muestreado. Por último la treonina presentó valores bajos en los aminoácidos libres durante los tres periodos de inanición siendo estos de 0.42, 0.90 y 0.16% respectivamente. (Tablas XIII y XIV presentan los valores de aminoácidos totales y libres expresados con relación al % y a los mg/mL de proteína contenida en el tejido de abulón respectivamente).

Los aminoácidos libres presentes en las muestras de plasma, presentaron dos patrones claramente observados a lo largo del periodo de inanición; en el primero de ellos partiendo de un valor inicial para cada aminoácido, estos sufren una disminución en sus valores hacia los dos primeros tiempos analizados, para después presentar un incremento que se mantiene por los otros dos periodos, y finalmente disminuye hasta tener un valor mas bajo al registrado al inicio del experimento. Un ejemplo de este comportamiento lo registro la taurina que es uno de los aminoácidos presentes en mayor proporción en plasma. En el segundo caso, al inicio del periodo de inanición, los valores para los aminoácidos son bajos y conforme transcurrió el tiempo, el contenido de estos aumento hasta ser mayor su valor final que el inicial, la valina es un ejemplo de este comportamiento, siendo otro aminoácido que presento valores altos al inicio del experimento. (Tablas XV presenta los valores de aminoácidos libres en plasma expresados con relación a los mg/mL de proteína contenida en plasma)

Tabla XIII. Valores en promedio de Aminoácidos Totales expresados en porcentaje respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición.

Aminoácidos	aa. totales en	aa. totales en	aa. totales en
	tejido	tejido	tejido
	tiempo inicial	7 días	30 días
	n=5	n=5	n=5
	%	%	%
Lisina	4.54	4.31	6.04
Aspargina	6.89	6.89	7.38
Serina	3.44	3.48	4.06
Ac. glutámico	9.45	8.79	10.50
Glicina	4.75	4.12	5.17
Histidina	1.59	1.44	1.63
Taurina	52.78	47.89	67.15
Arginina	6.19	5.53	8.46
Treonina	4.01	3.75	4.85
Alanina	3.17	2.90	4.57
Prolina	3.15	3.08	3.51
Tirosina	2.61	2.46	2.54
Valina	2.87	2.60	2.97
Metionina	2.22	2.22	1.72
Isoleucina	2.69	2.20	7.39
Leucina	3.82	3.51	5.30
Fenilalanina	3.08	2.80	2.19

Tabla XIV. Valores en promedio de Aminoácidos Libres expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenida en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición.

Aminoácidos	aa. libres en	aa. libres en	aa. libres en
	tejido	tejido	tejido
	tiempo inicial	7 días	30 días
	n=5	n=5	n=5
	mg/mL	mg/mL	mg/mL
Lisina	0.080	0.070	0.081
Aspargina	0.272	0.354	0.459
Serina	0.019	0.014	0.029
Ac. glutámico	0.073	0.040	0.045
Glicina	0.088	0.061	0.041
Histidina	0.018	0.014	0.008
Taurina	1.086	0.659	1.120
Arginina	0.248	0.180	0.146
Treonina	0.010	0.021	0.003
Alanina	0.056	0.038	0.033
Prolina	0.032	0.018	0.011
Tirosina	0.007	0.002	0.003
Valina	0.174	0.222	0.172
Metionina	0.013	0.012	0.006
Isoleucina	0.516	0.479	0.429
Leucina	0.093	0.086	0.069
Fenilalanina	0.044	0.046	0.064

Tabla XV. Valores en promedio de Aminoácidos Libres en plasma expresados en mg/mL respecto al % de proteína contenido en el plasma de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en seis diferentes periodos de inanición.

Aminoácidos	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres
	en	en	en	en	en	en
	plasma	plasma	plasma	plasma	plasma	plasma
	t inicial	24 horas	48 horas	7 días	15 días	30 días
	n=20	n=15	n=15	n=15	n=10	n=5
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
Lisisna	48.69	73.75	72.38	160.14	137.90	325.72
Aspargina	2.08	3.67	4.75	3.26	3.19	2.18
Serina	12.54	18.31	16.85	15.39	12.58	17.11
Ac. glutámico	4.08	5.74	5.31	4.32	6.45	6.63
Glicina	2.97	3.35	3.22	3.04	4.59	3.66
Histidina	3.75	4.23	4.68	4.90	6.24	6.28
Taurina	760.87	857.10	719.37	1100.88	1070.71	916.96
Arginina	7.32	8.91	9.26	7.45	6.96	51.33
Treonina	4.38	4.71	3.15	3.18	2.90	3.53
Alanina	10.71	6.44	6.53	7.72	5.10	4.66
Prolina	2.01	3.56	3.77	4.14	1.19	2.14
Tirosina	16.97	22.26	20.24	19.69	19.74	24.26
Valina	455.47	645.26	589.91	823.20	470.07	697.63
Metionina	19.80	27.02	24.68	26.02	130.23	26.96
Isoleucina	4545.56	577.05	519.00	732.63	744.26	479.63
Leucina	136.96	249.59	182.30	198.93	187.47	225.57
Fenilalanina	69.02	118.77	103.06	104.28	95.17	123.60

Se realizó un análisis de varianza de una vía para las muestras de aminoácidos totales y libres en tejido, donde en las muestras de aminoácidos totales se encontró que hay diferencias significativas ($P < 0.001$) entre los dos primeros periodos analizados y el último para asparagina, ac. glutámico, histidina, prolina, tirosina y valina; para serina ($P = 0.003$), fenilalanina ($P = 0.006$) y metionina ($P = 0.007$); la glicina presentó diferencias significativas ($P < 0.001$) entre el periodo inicial y los 7 y 30 días de inanición, la alanina presentó diferencias significativas ($P = 0.002$) entre los dos primeros periodos (tiempo inicial y 7 días) y el último periodo (30 días); la arginina presentó diferencias significativas ($P = 0.024$) entre el 7mo día de inanición y el periodo inicial y 30 días de inanición; la leucina e isoleucina presentaron diferencias significativas ($P = 0.017$ y $P = 0.002$) entre los tres periodos muestreados; mientras que la taurina y la treonina no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) durante los tres periodos de inanición (Tabla XVI).

En las muestras de aminoácidos libres en tejido, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para ninguno de los aminoácidos encontrados en forma libre en el tejido de abulón a lo largo de los tres periodos de inanición (tiempo inicial, 7 y 30 días) los resultados se muestran en la Tabla XVII.

En las muestras de plasma también se realizó un análisis de varianza de una vía, donde no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los seis diferentes tiempos muestreados para ninguno de los aminoácidos presentes en las muestras. (Tabla XVIII).

Tabla XVI. ANOVA Valores en promedio de Aminoácidos Totales en tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.

Aminoácidos	aa. totales en tejido. tiempo inicial n=5	aa. totales en tejido 7 días n=5	aa. totales en tejido 30 días n=5	ANOVA	
	%	%	%	F	P
Lisina	100	100	100	1.00	1.00
Aspargina	152 ^a	159 ^a	123 ^b	33.35	<0.001
Serina	76 ^a	80 ^a	68 ^b	10.28	0.003
Ac. Glutámico	209 ^a	203 ^a	174 ^b	35.48	<0.001
Glicina	105 ^a	96 ^b	86 ^b	13.39	<0.001
Histidina	35 ^a	33 ^a	27 ^b	16.20	<0.001
Taurina	1163 ^a	1114 ^a	1154 ^a	0.980	0.614
Arginina	137 ^a	128 ^b	141 ^a	5.14	0.024
Treonina	88 ^a	87 ^a	81 ^a	3.02	0.087
Alanina	70 ^b	67 ^b	76 ^a	10.67	0.002
Prolina	69 ^a	71 ^a	59 ^b	13.62	<0.001
Tirosina	57 ^a	57 ^a	43 ^b	23.62	<0.001
Valina	63 ^a	60 ^a	50 ^b	30.34	<0.001
Metionina	49 ^a	51 ^a	29 ^b	9.96	0.007
Isoleucina	59 ^c	51 ^b	123 ^a	12.20	0.002
Leucina	84 ^c	81 ^b	88 ^a	5.81	0.017
Fenilalanina	68 ^a	65 ^a	37 ^b	10.26	0.006

Superíndices diferentes indican diferencias significativas.

Tabla XVII. ANOVA Valores en promedio de Aminoácidos Libres en el tejido de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.

Aminoácidos	aa. libres en tejido. tiempo inicial n=5	aa. libres en tejido 7 días n=5	aa. libres en tejido 30 días n=5	ANOVA	
	%	%	%	F	P
Lisina	100	100	100	1.00	1.00
Aspargina	1233	1737	14357.64	2.18	0.336
Serina	97	40	2303.74	0.14	0.932
Ac. glutámico	249	211	1438.91	0.38	0.827
Glicina	475	383	2103.42	0.38	0.827
Histidina	105	44	352.78	0.11	0.949
Taurina	5573	1044	4905.79	1.94	0.379
Arginina	909	2267	1587.13	1.14	0.566
Treonina	69	175	130.59	0.99	0.608
Alanina	196	207	1014.75	0.38	0.827
Prolina	131	75	324.92	0.70	0.706
Tirosina	16	13	41.48	1.06	0.377
Valina	523	1140	4733.86	0.56	0.756
Metionina	49	59	112.96	0.66	0.717
Isoleucina	2038	2662	14122.47	0.42	0.811
Leucina	351	452	2001.88	0.42	0.811
Fenilalanina	169	247	1187.35	0.52	0.733

Tabla XVIII. ANOVA Valores en promedio de Aminoácidos Libres en el plasma de abulón azul (*Haliotis fulgens*) en tres diferentes periodos de inanición expresado en 100% de Lisina.

Aminoácidos	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres	aa. libres	ANOVA	
	en	en	en	en	en	en	F	P
	plasma t. inicial n=20	plasma 24 horas n=15	plasma 48 horas n=15	plasma 7 días n=15	plasma 15 días n=10	plasma 30 días n=5		
%	%	%	%	%	%			
Lisina	100	100.00	100	100	100	100	1.00	1.00
Aspargina	40.21	16.55	9.47	7.38	11.50	1.12	4.020	0.546
Serina	154.32	70.61	41.04	44.92	42.71	8.35	8.709	0.121
Ac. glutámico	36.81	21.63	14.34	17.92	14.85	3.31	5.483	0.360
Glicina	43.50	11.09	9.43	7.50	10.89	1.87	5.017	0.414
Histidina	34.66	20.28	9.94	15.62	18.91	3.15	5.138	0.399
Taurina	5360.57	3597.36	1605.28	2108.12	3418.30	411.04	8.743	0.120
Arginina	85.73	34.19	27.94	21.15	21.54	25.94	2.476	0.780
Treonina	55.79	17.76	7.75	11.18	9.39	1.71	11.376	0.044
Alanina	145.56	30.06	18.03	16.63	13.21	2.37	14.739	0.012
Prolina	13.44	13.60	8.32	13.21	3.02	1.12	5.783	0.328
Tirosina	204.45	88.31	48.95	56.44	68.52	12.10	23.112	0.001
Valina	5634.55	2563.02	1432.86	1731.25	1588.54	349.61	5.778	0.328
Metionina	223.10	109.05	58.67	67.27	435.67	13.39	7.719	0.172
Isoleucina	7796.63	3214.39	1637.69	2433.74	3014.80	248.78	4.309	0.506
Leucina	1613.21	1266.50	440.36	506.35	635.32	112.41	6.850	0.232
Fenilalanina	991.01	463.48	250.49	280.84	338.33	61.62	6.162	0.291

Porcentaje de Pérdida.

Durante 30 días los organismos fueron sometidos a un periodo de inanición, a lo largo de este tiempo los organismos registraron una pérdida de peso de 1.84 ± 1.77 g (4.85%) y de 3.06 ± 1.89 g (8.38%) para los 7 y 30 días de inanición respectivamente. Durante estos primeros 7 días de inanición se encontró, que de este 1.84 g perdidos de peso 1.41 g corresponden a proteína, 0.026 g corresponden a lípidos y los 0.40 g restantes pertenecen al extracto libre de nitrógeno y cenizas. Para los 30 días de inanición se encontró que de los 3.06 g perdidos 2.14 g corresponden a proteína y 0.076 g corresponden a lípidos, los 0.83 g restantes corresponden al extracto libre de nitrógeno y cenizas. Al multiplicar estos valores de pérdida por los factores de conversión se obtuvo que para los 7 días de inanición, el gasto energético de mantenimiento fue de 1.17 kcal/día/org. y para los 30 días fue de 0.42 kcal/día/org.

Tabla XIX. Valores aproximados de pérdida en gramos en el tejido de abulón durante dos periodos de inanición.

	7 días		30 días		Kcal/org
	inicial	final	g	final	
	g	g	Kcal/org	g	Kcal/org
Proteína	27.09	1.41	7.96	2.14	12.09
Lípidos	0.56	0.026	0.245	0.076	0.72
Ceniza y ELN	10.92	0.40	-	0.84	-
Total	38.59	1.84	8.21	3.06	12.81

VI. DISCUSION

El objetivo principal del presente trabajo fue observar posibles diferencias en el perfil de aminoácidos entre las diversas tallas de organismos. De esta manera, se pudo comprobar que no existieron tales diferencias donde el perfil no cambia al menos entre organismos de 3 a 36 cm. Esta información es de suma importancia cuando se tratan de formular dietas para uso comercial, basándose en el perfil mismo de los organismos. Dicho perfil de aminoácidos es en cierta forma parecido a los reportados por King *et al.* (1996), Knauer *et al.* (1995) y Allen y Kilgore (1975) para *H. rubra*, *H. midae* y *H. rufescens* respectivamente. Fleming *et al.* (1996) en una revisión sobre nutrición del abulón comparan dichos perfiles con el obtenido en tejido de cerdo, encontrando cierta similitud al reportarse en tasas relativas a lisina. De igual manera se observa que en *H. rufescens* existe cierta similitud donde los mismos aminoácidos más relevantes o dominantes (arginina, metionina, Valina, alanina, leucina y ácido glutámico), son exactamente los encontrados para el *H. fulgens* aunque en concentraciones menores. Esta diferencia puede deberse a que en el presente trabajo se cuantifico la taurina que mostró una alta concentración enmascarando al resto de los aminoácidos. Los escasos reportes sobre el contenido de taurina, obedecen primordialmente a su ausencia dentro de los estándares de aminoácidos comúnmente utilizados, lo que impide sea identificado y por lo tanto cuantificado dentro del grupo de aminoácidos constituyentes del perfil. En las muestras de tejido y plasma de abulón, se reconoció a la taurina como el aminoácido presente en mayor proporción (45%) en forma total y (30%) libre, coincidiendo esto con lo mencionado por Bewick (1997). En plasma, este aminoácido constituyó el 35% y aún

cuando no existen reportes en plasma de abulón que sirvan para comparar este dato se piensa que presenta la misma tendencia que la encontrada en el tejido y aminoácidos libres en el tejido. La presencia de taurina en tan altas cantidades no es algo nuevo, de hecho aparece en altas concentraciones en carnes rojas y otras especies animales (Belitz y Grosch, 1987) donde es metabolizada rápidamente a diferencia de lo que ocurre con los gasterópodos marinos donde presenta facilidad para almacenarse en el tejido (Bishop *et al.*, 1993), razón por la cual, la presencia de taurina en un 50% del total de los aminoácidos libres es normalmente encontrada en las diferentes especies acuáticas. Este aminoácido está relacionado con la regulación osmótica durante los procesos de estrés osmótico (Bishop *et al.*, 1993), proceso donde regula el volumen de las células y la presión osmótica intracelular. También se encuentra asociada al metabolismo anaerobio (Wells y Baldwin, 1995), donde la tauroquina se encuentra en el pie y en los músculos aductores es utilizada por el metabolismo anaerobio de estos músculos durante la locomoción. Se cree que la taurina puede producir el sabor y la consistencia de la carne (Bewick, 1997). No se sabe con certeza cuál sea su origen, aunque la vía para la biosíntesis de la taurina a través de la metionina, ha sido confirmada en algunos moluscos (Florkin y Bricteux-Grégoire, 1972). Aun así el contenido de metionina en el tejido de abulón es del 1.5% lo cual está muy por debajo de lo que se requeriría para que ésta sea la vía de síntesis de taurina en el abulón, y aunque aquí no fue posible determinar el contenido de cisteína se sabe que este aminoácido se encuentra en pequeñas cantidades (Fleming *et al.*, 1996). Se ha pensado también en la participación del metabolismo bacteriano del sistema digestivo como formador de la cisteína, precursor de la taurina (Bishop *et al.*, 1993). Las bacterias y las plantas superiores, son

capaces de utilizar la cisteína como fuente de azufre para formar metionina, este proceso se conoce como transulfuración, donde se forma un producto llamado cistatiomina, a la que se le separa el átomo de azufre para producir homocisteína; esta es metilada subsecuentemente y forma metionina y algún otro aminoácido que se cree pudiera ser la taurina (Conn *et al.*, 1998). Estas reacciones ocurren solamente en bacterias y plantas, en animales son casi opuestas, pues estos últimos no pueden sintetizar cisteína u homocisteína a partir de H_2S o SO^4 ; por ello, los animales la sintetizan a partir de metionina, aminoácido considerado como esencial por ésta razón. Es lógico pensar que las bacterias contribuyan en este proceso ya que se ha comprobado juegan un papel importante en el proceso digestivo del abulón (Monje y Viana. 1998. Enríquez *et al.*, 2001, Lazo de la Vega comunicación personal²).

Un aspecto importante de hacer mención, es que los llamados aminoácidos totales contenían la fracción de aminoácidos libres en tejido, y fueron extraídos del tejido mismo. Esto implica, que las posibles diferencias entre ambos estén enmascaradas, sin embargo, si se consideran las cantidades relativas, se podría suponer que los cambios entre ambos grupos se deben a que los aminoácidos en el tejido están teniendo un cambio mayor, debido a que no se analizaron por separado.

Otro de los objetivos de este trabajo fue conocer el flujo de aminoácidos en plasma durante un proceso de inanición. De tal manera que al dejar organismos de la misma talla sin alimento, se pudiera monitorear el plasma e ir conociendo el orden de

² Alejandra Lazo de la Vega, estudiante del proyecto rodendra@yahoo.com

utilización de los aminoácidos y así relacionarlos con su importancia en el metabolismo de mantenimiento. De nueva cuenta, no fue posible observar diferencias significativas ni en tejido completo (aminoácidos totales y aminoácidos libres en el tejido) ni en plasma, después de 30 días de inanición y de llevar a cabo el análisis proximal de los diferentes organismos resultó que tampoco se observaron diferencias en proteína. No obstante, fue encontrada diferencia en el contenido de lípidos y cenizas. Esto explica que el perfil de aminoácidos logra ser mantenido de una manera estable y eficiente a lo largo del tiempo, mientras que los lípidos y cenizas cambian como efecto relativo de la pérdida de peso de los organismos en inanición. En este trabajo se utilizaron organismos de 38.59 ± 5.66 g los que al final de 30 días perdieron 3.06 ± 1.89 g materia que fue utilizada para mantenimiento. De esta manera se observa que el papel de la proteína en el abulón es fundamental, ya que se conserva como una materia energética estable mientras los carbohidratos de reserva son utilizados, corroborándose al observar que durante los primeros 7 días de inanición se obtuvo pérdida relativa de los carbohidratos. Se sabe que el glucógeno es el material energético primordial de la mayoría de los invertebrados (Carefoot *et al.*, 1993), mismo que es almacenado en el pie y en la glándula digestiva de los gasterópodos y otros moluscos, de ahí es liberado al plasma para llegar a todos los tejidos del organismo. Observándose que el contenido de glucosa en el plasma sufre una disminución del 53% durante los primeros 7 días y posteriormente recuperando su nivel en un 7%, el cual fue mantenido a lo largo del experimento. Estos resultados coinciden con lo reportado por Carefoot *et al.* (1993). De esta manera se cree que el abulón agota sus reservas naturales mientras poco a poco va disminuyendo su metabolismo (Chacón *et al.*, en preparación) hasta que la proteína

empieza a ser degradada del tejido proveyendo el sustento metabólico en aminoácidos y recuperando los niveles de glucosa (glucogénesis), que si bien no llegan a sus niveles iniciales de alimentación, si logran mantenerse de una manera estable. Probablemente los lípidos sean el material de reserva menos importante en el abulón, calculando que tan solo 0.076% de lípidos por organismo fueron utilizados como material energético durante los 30 días de inanición a diferencia del 2.14% de proteína. En este corto periodo, no se pudo determinar si el incremento en el contenido de lípidos se debió a síntesis o a la conservación de estos.

Calculando los valores teóricos de consumo de energía, encontramos que para los 7 días de inanición, el gasto energético fue de 4.05 kcal/día/org y para los 30 días fue de 3.04 kcal/día/org. Indicando que al principio del periodo de inanición el gasto es mayor, porque el abulón aún no llega a los niveles de metabolismo basal (Chacón *et al.*, en preparación). El estado de inanición durante 30 días es considerado corto para llegar a los límites extremos de mortalidad, según lo reportado por Chacón *et al.* (en preparación) y Carefoot *et al.* (1993) donde llevaron a la inanición durante 60 y 27 días respectivamente. El presente trabajo no tenía el propósito de llegar hasta esos límites. El objetivo fue conocer el flujo de aminoácidos durante la fase crítica para llegar al metabolismo basal.

VII. CONCLUSIONES

1. No existen diferencias en el perfil de aminoácidos entre los organismos de diferentes tallas, tanto en tejido como en aminoácidos libres en tejido.
2. Durante el proceso de inanición el abulón utiliza preferentemente las reservas como glucosa y proteína en plasma, para después utilizar la proteína en el tejido la cual suplirá el nivel de proteína en el plasma y formación de glucosa.
3. La proteína en tejido es utilizada como fuente energética de una manera más eficiente mostrado por su reducción.
4. El abulón en un proceso de inanición gasta entre 0.42 y 1.17 kcal/día/organismo, representando su gasto energético basal.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Allen, W.V. y Kilgore, J., 1975. The essential amino acid requirements of the red abalone, *Haliotis rufescens*. Comp. Biochem. Physiol., 50A: 771-775.
- Association of Oficial Analytical Chemist A.O.A.C., 1990. Official methods of Analysis. Association of Oficial Analytical Chemists. 15 th Ed. Washinton, DC, U.S.A., pp.1298.
- Badui, S., 1999. Química de los alimentos, Tercera Edición, Pearson Educación, México, D.F., pp.637.
- Belitz, H.D. y Grosch W., 1987. Food Chemistry, Primera Edición, Springer Verlag.
- Bewick, M.D., R.M.G. Wells y R.J. Wong. 1997. Free amino acids and nucleotide concentrations in New Zealand abalone (Paua) *Haliotis iris*, fed casein-based, macroalgal, or wild diets. Journal of Aquatic Food Product Technology. Vol. 6(4).
- Bishop S. H., Ellis, L L. y Burcham, J.M., 1993. Aminoacid metabolism in mollusks En: P.W. Hochachka (Editor), The Mollusca, Vol. 1. Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics. Academic Press, New York., pp.243-307.
- Bligh, E.G. y W.J. Dyer., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J of Biochem. Physiol. 37. 911-917.
- Britz, P.J., N. Bacela y T. Hecht. 1997. Can crystalline argine be used to quantify the arginine requeriment of abalone?. Aquaculture. 157. 95-105.
- Carefoot, T.H., P.Y. Quian, B.E. Taylor, T. West y J. Osborne. 1993. Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. Aquaculture. 118. 315-325.
- Chacón, O., M.T. Viana, C. Vasquez, Z. García-Esquivel. Circadian metabolic rate of juvenile green abalone, *Haliotis fulgens* under fed/satarvation conditions and short term effects of three anesthetics. En preparación.
- Church, D.C. y W.G. Pond., 1982. Basic animal nutrition and feeding. 3th.Edition, Ed. Wiley. N.Y.
- Creighton, T. 1993. Proteins, structures and molecular properties, 2d Edition, W.H. Freeman and Company, N.Y.
- De Silva Sena y Trevor A. Anderson., 1995. Fish Nutrition in Aquaculture, Chapman & Hall, Londres.

- Enríquez, A., Viana, M.T., Vásquez, C. y A. Shimada., 2001. Digestion of cellulosa by stomach Homogenates of green abalone (*Haliotis fulgens*). Journal of Shellfish Research, vol. 20, num. 1, 297-300.
- Fennema, O., 1996. Amino Acids, Peptides and Proteins en: Food Chemistry, Third Edition, Dekker, N.Y. pp.1042.
- Fleming, A.E. R.J.Van Barneveld, y W.O. Hone., 1996. The development of artificial diets for abalone: A review and future directions. Aquaculture, 140:5-53.
- Florkin, M. and Bricteux-Grégoire, S., 1972. Nitrogen metabolism in mollusks. In: M. Florkin and B.T.Scheer (Editors), Chemical Zoology, Vol. VII. Mollusca. Academic Press, New York., pp.309-343.
- Hahn, K., 1989. Nutrition and growth of abalone. En: K. Hahn (Editor), Handbook of Culture of Abalone and other Marine Gastropods. CRC Press, Boca Raton, Fl. ,pp.135-180.
- Houlihan, D., T. Boujard, y M. Jobling., 2001. Food intake in fish. Blackwell Science.,pp.297-331.
- King, R.H., C.J. Rayner, M. Kerr, H.K. Gorfine y P.E. McShane. 1996. The composition and aminoacids balance of abalone *Haliotis rubra* tissue. Aquaculture. 140. 109-113.
- Lowry, O. U., N.J. Rosenbrough, A. L. Farr y P. J. Randal., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193: 265 – 275.
- Mai, K., J.P. Mercer y J. Donlon., 1994. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus and *Haliotis discus hannai* Ino. II Aminoacids compositon of abalone and six species of macroalgae with and assessment of their nutritional value. Aquaculture., 128. 115-130.
- Mercer, J.P., Mai, K.-S y Donlon, J., 1993. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* Linnaeus and *Haliotis discus hannai* Ino. I. Effects of algal diets on growth and biochemical composition. Ivert. Reprod. Dev., 23:(2-3) 75-78.
- Monje, H. y M.T. Viana., 1998. The effect of cellulose on the growth and cellulolytic activity of abalone *Haliotis fulgens* when used as an ingredient in formulated artificial diets. J. of Shelfish Research., 17:667-671.
- Navarro, I. y J. Gutiérrez., 1995. Fasting and Starvation. En: Biochemistry and molecular biology of fishes. Vol. 4. Elsevier Science. B.V., pp.393-434.

- Shimada, A., 1983. Fundamentos de Nutrición Animal Comparativa. 1ª. Ed. Sistema de Educación Continúa en Producción Animal en México, A.C. México, D.F., pp.375.
- Viana, M.T., L.M. López, Z. García-Ezquivel y E. Méndez. 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as and ingredient in abalone feed. *Aquaculture*. **140**. 87-98.
- Waters, 1993. Manual de funcionamiento. Millipore Corporation. U.S.A., pp.35.
- Wells, R.M.G. y J. Baldwin. 1995. A comparison of metabolic stress during air exposure in two species of New Zealand abalone, *Haliotis iris* y *Haliotis australis*: implications for handling and shipping of live animals. *Aquaculture*. **134**. 361-370.

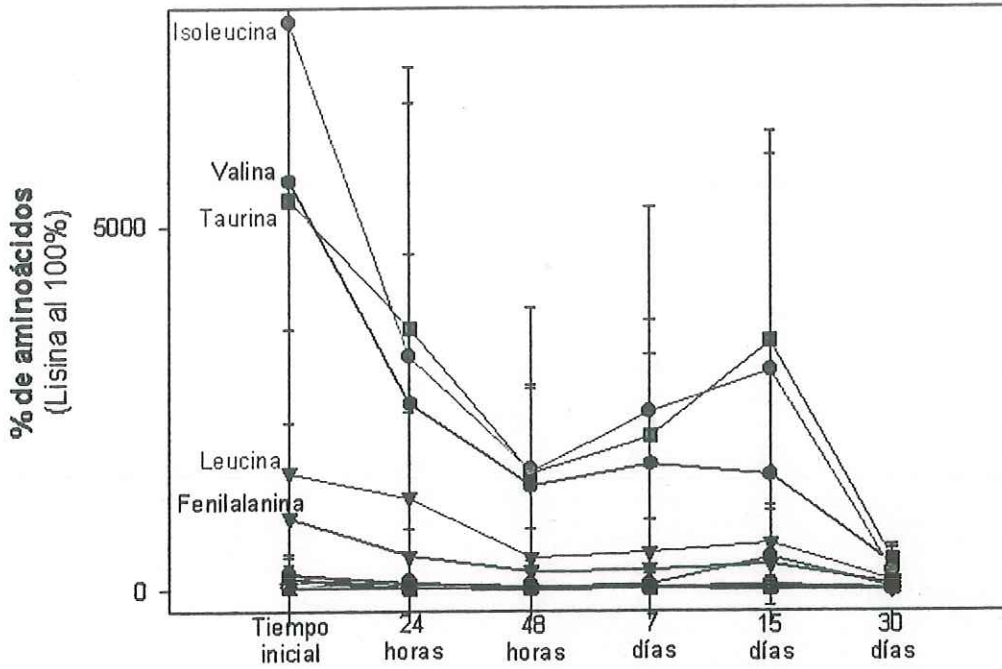
IX. ANEXOS

Tabla XX. Composición de aminoácidos en el cuerpo blando de distintas especies de abulón (equivalente al porcentaje de proteína contenida en el cuerpo)

Aminoácidos	<i>H. rubra</i> ^a	<i>H. midae</i> ^b	<i>H. rufescens</i> ^c	<i>H. iris</i> ^d
Cistina	1.42	2.41	0.69	1.42
Acido aspártico		10.54	11.20	10.20
Treonina	4.13	4.99	4.63	4.30
Serina		5.13	4.29	5.70
Acido glutámico		14.82	13.50	14.60
Prolina		5.24	2.68	4.30
Glicina		8.37	4.96	8.40
Alanina		5.82	5.45	5.90
Valina	4.23	4.61	4.72	4.10
Metionina	1.96	2.09	2.60	1.53
Isoleucina	3.62	4.11	3.78	3.70
Leucina	6.13	6.93	7.84	7.30
Tirosina	2.88		3.81	3.20
Fenilalanina	3.12	3.90	4.07	4.20
Triptofano	0.93	0.82	0.38	1.10
Lisina	5.30	6.21	5.99	5.90
Histidina	1.78	1.82	1.97	2.10
Arginina	9.03	7.91	7.26	10.00

^aKing, *et al.*, (1996). ^bKnauer, *et al.*, (1995). ^cAllen and Kilgore, (1975). ^dPromak Technology, (NZ) Ltd.

Variación de aminoácidos en plasma
a diferentes tiempos de inanición



Variación de aminoácidos en plasma
a diferentes tiempos de inanición

