

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**LAVADO DE NUTRIENTES Y ESTABILIDAD DE ALIMENTOS
ACUÁTICOS PARA ABULÓN, UTILIZANDO DIVERSOS ENLAZANTES**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

BIÓLOGA

PRESENTA :

JULIETA VANESSA GARCÍA SUÁREZ

ENSENADA. B. C.

MAYO DE 1999

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

**LAVADO DE NUTRIENTES Y ESTABILIDAD DE ALIMENTOS
ACUATICOS PARA EL ABULON UTILIZANDO DIVERSOS
ENLAZANTES**

TESIS PROFESIONAL

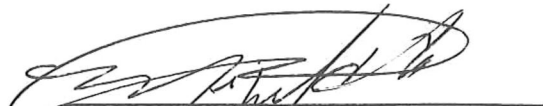
QUE PRESENTA

JULIETA VANESSA GARCIA SUAREZ

APROBADA POR:



**DRA. MARÍA TERESA VIANA CASTRILLON.
PRESIDENTA DEL JURADO**



**M.C. MIGUEL HUMBERTO CARRILLO MENDIVIL
SECRETARIO**



**M.C. FELIPE CORREA DIAZ
1ER. VOCAL**

AGRADECIMIENTOS

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

A la Dra. Ma. Teresa Viana, por su amistad, apoyo y dirección durante la realización del trabajo de tesis.

A la granja de abulón Aquam Internacional, por la beca otorgada, durante el desarrollo de la tesis.

Al M.C. Roberto Escobar, por su amistad y apoyo en el trabajo de laboratorio.

A mis Sinodales M.C. Felipe Correa, y M.C. Miguel H. Carrillo, por su apoyo incondicional.

A Beku y Godzi por su cariño y paciencia.

Al moteurur por traerme hasta aquí.

A mis tíos Rogelio y Martha por su apoyo.

A mis tíos Alejandro, Marco Antonio y José Luis que aunque ya no están siempre me ayudan.

DEDICATORIA

Con mucho cariño para mis osos, por todo este tiempo que me han ayudado y aguantado.

La meta inicial esta cumplida.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de diferentes enlazantes, sobre la estabilidad y lavado de nutrientes de alimento artificial para abulón. Se emplearon como enlazantes agar, gelatina, y gelatina-enzima, en combinación cada uno con almidón no gelatinizado y gelatinizado; Se prepararon dos bloques: control, agar, gelatina y gelatina-enzima con almidón no gelatinizado y otro igual pero con almidón gelatinizado. Las pruebas de estabilidad (pérdida de materia seca a las 12 horas a 17 °C) mostraron que las dietas con gelatina-enzima y con almidón gelatinizado tuvieron la mejor estabilidad, mientras que la dieta control y la dieta de agar con almidón no gelatinizado presentaron la estabilidad más baja. Las pruebas de lavado de nutrientes dado como pérdida de proteína y carbohidratos solubles a las 2,4,6,12 y 24 horas, reportaron que el mayor porcentaje de lavado de proteína equivalente, según Lowry (1951), se realizó durante las 6 primeras horas, y se mantuvo casi constante hasta las 24 horas. Para el lavado de carbohidratos (H_2SO_4 -Antrona) se observó que desde las 4 primeras horas se liberaron la mayor parte de los carbohidratos solubles, la salida de los mismos disminuyó conforme se completaban las 24 horas. Se concluyó que el almidón gelatinizado sí enmascara el efecto de los enlazantes, y en combinación con la gelatina mejoro la estabilidad, la apariencia y consistencia del alimento. La enzima transglutaminasa no corrigió la apariencia y consistencia del mismo y el agar tampoco proporciono ninguna ventaja, su apariencia a simple vista fue más porosa y tuvo como consecuencia una mala estabilidad.

INDICE GENERAL

	pag.
INTRODUCCIÓN	
1. ABULÓN	1
2. ALIMENTO ARTIFICIAL	2
3. ALIMENTOS PARA ORGANISMOS ACUATICOS (“AQUAFEEDS”)	3
ANTECEDENTES	
1. ESTABILIDAD	5
2. ENLAZNTES	5
3. EXPERIENCIAS SOBRE LIGANTES EN EL ALIMENTO ARTIFICIAL PARA ABULÓN	8
OBJETIVO	
OBJETIVOS PARTICULARES	11
HIPÓTESIS	11
MATERIAL Y METODOS	
ALIMENTO	12
ANÁLISIS PROXIMAL	17
ESTABILIDAD	18
LAVADO	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIÓN	40
RECOMENDACIONES	41
LITERATURA CITADA	42

INDICE DE TABLAS

	pag.
Tabla I. Composición de las dietas artificiales evaluadas. Valores en porcentaje de peso seco. Los diferentes enlazantes fueron probados con almidón no gelatinizado (a), almidón gelatinizado (b) y un control sin enlazante.	15
Tabla II. Composición proximal de las diferentes dietas experimentales y control con almidón no gelatinizado (a) y almidón gelatinizado (b).	21
Tabla III. Promedios de estabilidad, contenido de proteína, lavado de proteína y carbohidratos a diferentes tiempos de las dietas experimentales y controles con almidón no gelatinizado (a) y almidón gelatinizado (b), se incluye el error estandar para la estabilidad en paréntesis.	23
Tabla IV. Análisis de varianza de dos factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante) para la estabilidad de los "pellets" después de doce horas de inmersión en agua de mar con flujo constante. Comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls para detectar posibles interacciones entre almidón y enlazantes.	23
Tabla V. Análisis de varianza (ANOVA de tres vías) para el lavado de proteína de las dietas experimentales y sus controles con los siguientes tres factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante; c.- 2,4,6,12 y 24 horas de inmersión en agua de mar). Además de comparaciones múltiples por el método Student-Newman-Keuls para detectar interacciones.	26
Tabla VI. Análisis de varianza (ANOVA de tres vías) para el lavado de carbohidratos de las dietas experimentales y controles con los siguientes tres factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante; c.- 2,4,6,12 y 24 horas de inmersión en agua de mar). Además de un estudio de comparaciones múltiples por el método se Student-Newman-Keuls para detectar posibles interacciones entre los factores.	30

INDICE DE FIGURAS

	pag.
Figura 1. Muestra del alimento balanceado para abulón-----	-16
Figura 2. Malla para la determinación de estabilidad----- (porcentaje de pérdida de materia seca) del alimento para abulón.	-16

INTRODUCCIÓN

1. ABULÓN

El abulón es un molusco de gran importancia para la economía de Baja California y Baja California Sur. Según información de Bancomext (1999) para 1993, el abulón constituyó el segundo producto pesquero generador de divisas en México. Sin embargo, la sobre explotación de este recurso, aunado a su lento crecimiento y destrucción de su hábitat natural, ha propiciado que el valor comercial de las diferentes especies se haya elevado lo suficiente para catalogar esta pesquería como un recurso exótico (US \$ 70.00 / Kg). Esto da lugar a que sea una interesante alternativa para la exportación a los países asiáticos para generar divisas.

El abulón es un organismo gasterópodo, considerado como un herbívoro que se alimenta de macroalgas (Hahn, 1989). Sin embargo, se sabe que para lograr un óptimo crecimiento, requiere de cantidades mayores de proteína que las contenidas en las macroalgas (Mai *et al.* , 1995). Por esto, se piensa que en el medio natural complementa su alimentación con los organismos epífitos que crecen sobre las macroalgas. El abulón es capaz de raspar mediante una rádula, presenta hábitos alimenticios nocturnos y lentos, por lo que puede durar varias horas en completar su alimentación.

Para el cultivo de este gasterópodo, su nutrición representa un problema ya que es necesario el suministro de una alimentación más diversa aparte de las macroalgas en los

tanques de cultivo. Esto puede lograrse cuando se favorece la producción de diatomeas bentónicas en los estanques (Arroyo *et al.*, 1996), o bien con la elaboración de alimento artificial. Este último, ha demostrado ser capaz de resultar en tasas de crecimiento más altas que las obtenidas con macroalgas en condiciones de cultivo (Viana *et al.*, 1993a; Britz *et al.*, 1994). El problema de su utilización, ha sido el alto precio en el mercado (Fleming *et al.*, 1996), el cual se debe seguramente, a que dichas dietas requieren de una tecnología especial, porque su presentación y sus características de comportamiento en el agua, son diferentes a las requeridas por otras especies acuáticas.

2. ALIMENTO ARTIFICIAL

El cultivo de abulón es una actividad en plena expansión a escala mundial. Si bien su crecimiento es lento, (tarda aproximadamente 2 años en alcanzar la talla comercial), su precio en el mercado es lo suficientemente atractivo como para pensar en la rentabilidad de su cultivo (Oakes y Ponte, 1996). Japón y China son líderes en su cultivo con una alta producción (Fleming *et al.*, 1996). Australia ha logrado avances importantes tanto en cultivo como en fabricación de alimento artificial y comercial al igual que Japón, Nueva Zelanda y Sudáfrica. Sin embargo, en términos generales puede decirse que no se ha llegado a demostrar plenamente la rentabilidad de este recurso en cultivo debido precisamente al tiempo que tarda en llegar a la talla comercial, dando por resultado una incertidumbre en la recuperación de la inversión. Para México, el cultivo

del abulón no ha sido una actividad de importancia, sin embargo la declinación de su pesquería hasta una etapa de colapso (Guzmán-del Proo, 1992) ha motivado el interés en su cultivo (Salas-Garza y Searcy-Bernal, 1992; Mazón-Suástegui *et al.*, 1996) y ha alentado que la investigación sobre el recurso en México sea una actividad de gran importancia para asegurar la rentabilidad del recurso.

Para abaratar el costo de producción en el cultivo, se necesita el conocimiento básico sobre su nutrición y fisiología metabólica, así como el mejorar la tecnología de su alimento y técnicas de cultivo que nos aseguren que los nutrientes estén disponibles y lleguen al organismo en la cantidad adecuada.

3. ALIMENTOS PARA ORGANISMOS ACUATICOS ("AQUAFEEDS")

En todo sistema de producción acuícola es importante contar con un buen alimento. Que tenga una calidad adecuada sin variaciones durante todo el año, que este disponible y por último y más importante, que cubra los requerimientos nutricios de los organismos a cultivar. Esto puede lograrse con el empleo de raciones alimenticias balanceadas en forma de comprimidos o "pellets". Como alimento balanceado se entiende a aquel alimento que consiste de dos o más ingredientes, mezclados y procesados que satisfagan las necesidades fisiológicas de los animales (Tacon, 1989).

La alimentación para organismos acuáticos, a diferencia de la producción pecuaria

de organismos terrestres, es el que requieran que este alimento balanceado sea apropiado para ser administrado en un medio ambiente acuático, ya sea agua dulce, salobre o salada. Esto se refiere a que permanezca intacto por un cierto tiempo, es decir, que no se desintegre rápidamente, además de tener una flotabilidad o capacidad de hundirse apropiada a los hábitos alimenticios del organismo. De igual manera, la forma, tamaño y textura del alimento son importantes para asegurar su ingestión (Dominy, 1991; D'Abramo y Castell, 1997).

Dentro de los organismos acuáticos en cultivo, los hay muy voraces, como el salmón, quienes consumen el alimento casi de manera inmediata al ser suministrado, sin permitir que el alimento llegue a hundirse. Por otro lado, tenemos el alimento para camarón, el cual lo percibe por quimio-recepción más que visualmente y en ocasiones es consumido hasta después de varias horas (D'Abramo y Castell, 1997).

Al hablar de alimentos balanceados para abulón, es importante mencionar los factores que han hecho hasta ahora difícil su utilización en las zonas de cultivo: a) el alimento para abulón es un producto totalmente diferente a los que se encuentran en la actualidad en el mercado y requiere para su elaboración, la aplicación, de tecnología avanzada. b) debido a que el abulón es un organismo raspador, lento y de hábitos nocturnos, su alimento permanece por más de 12 horas en el agua, y durante este periodo no debe perder nutrientes, ya sea por desintegración (estabilidad) o por lavado (lixiviación). Esto con el fin de asegurar la ingestión de los nutrientes y para evitar, el desperdicio de alimento y merma en la calidad del agua (Hanh, 1989).

ANTECEDENTES

1. ESTABILIDAD

La estabilidad se refiere a la cantidad de materia seca que es perdida en el agua en un cierto tiempo a diferencia de la lixiviación que constituye la salida de los micronutrientes al agua: proteína, carbohidratos solubles, vitaminas y minerales (D' Abramo y Castell, 1997).

La estabilidad y lavado del alimento son problemas conocidos por quien elabora el alimento artificial, pero no se han determinado cantidades aceptables o permitidas y/o tasas de lavado para los nutrimentos, como normas de calidad para los productores de alimento para abulón (Fleming *et al.*, 1996), así como tampoco se ha estandarizado la metodología para determinar ambos parámetros en dietas acuáticas (D' Abramo y Castell, 1997).

2. ENLAZANTES

El alimento artificial para abulón se caracteriza por presentar una matriz a través de la cual los ingredientes están cohesionados o enlazados. Por los requerimientos asociados a la alimentación del abulón, el enlazante es crucial en el desarrollo de una dieta exitosa. Los diferentes tipos de enlazantes empleados en la elaboración de alimentos comerciales se mantienen como información reservada o están patentados.

Igualmente, hay poca información disponible sobre factores que influyen las propiedades de los enlazantes, tales como tipo de ingredientes, tamaño de partícula y técnicas de procesado (Fleming *et al.*, 1996).

La consistencia que requiere el alimento artificial, esta condicionada por los ingredientes y/o aglutinantes y depende de sus propiedades particulares y de las interacciones que tengan con todos los componentes que lo rodean en combinación con el efecto del proceso de elaboración.

Algunos de los ingredientes que además de su aporte al valor nutricional, contribuyen en las propiedades físicas y organolépticas del alimento son los enlazantes entre los cuales contamos con los siguientes:

a) Almidón

El almidón se utiliza con frecuencia en la formulación de dietas artificiales para abulón como fuente de energía y enlazante debido a sus propiedades viscoelásticas (Britz *et al.*, 1994; Monje y Viana, 1998; Simpson, 1994; Guzmán y Viana, 1998; Lopez y Viana, 1995; Knauer *et al.*, 1996; Rivero y Viana, 1996; Viana *et al.*, 1996; Kokini, 1992). El empleo del almidón en alta proporción favorece la cohesividad de los ingredientes en los alimentos artificiales moldeados manualmente o en equipos convencionales. Su uso en alimentos se asocia a sus características gelificantes,

espesantes y estabilizadoras obtenidas después del calentamiento. En ocasiones, para obtener las propiedades funcionales deseadas sin calentar la mezcla, se requiere de una modificación física del almidón. Una de ellas es el almidón modificado o gelatinizado, el cual se genera cuando se calientan suspensiones de almidón a temperaturas $> 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, para después secarse y proveer un producto soluble en agua fría que se gelifica.

b) Agar

El agar es una ficocoloide obtenido a partir de algas rojas que ha sido utilizado como enlazante en alimentos para abulón (Gorfine, 1991; Knauer et al., 1993; McShane et al., 1994). Este ligante tiene el poder de crear geles fuertes, termo-reversibles y con una alta diferencia entre las temperaturas de gelificación y fusión (histéresis), lo que lo hacen ser ampliamente utilizado en la industria para preparar medios de cultivo así como en la elaboración de alimentos como emulsificante y estabilizador.

c) Gelatina

La gelatina es un derivado del colágeno comúnmente utilizada en el procesamiento de alimentos, la cual constituye una mezcla de proteínas simples derivadas del tejido conectivo animal. La gelatina comercial es granulada, casi incolora y virtualmente sin olor, su solución es prácticamente agua-blanca, no es soluble en agua fría y si se calienta sobre su punto de fusión que es entre los $40\text{-}45\text{ }^{\circ}\text{C}$ se forma una solución viscosa. Las

propiedades más sobresalientes de la gelatina son su habilidad para formar geles reversibles, su viscosidad y la fuerza de película. Por estas razones, su utilización en la industria alimenticia es amplia, al igual que en la industria fotográfica y farmacéutica. En acuicultura se ha utilizado en dietas experimentales para salmón y erizo con buenos resultados. Más aún, en dichas dietas para erizo, se ha utilizado una enzima transglutaminasa (patente en trámite) la cual forma enlaces entre las cadenas de colágeno que generan una malla firme y que aumenta de esta manera la estabilidad (Raa, comunicación personal*).

3. EXPERIENCIAS SOBRE LIGANTES EN EL ALIMENTO ARTIFICIAL PARA ABULÓN

Muchos esfuerzos se han realizado para mejorar la estabilidad del alimento para el abulón, lográndose avances importantes en su composición nutricional (Fleming *et al.*, 1996). La razón radica en que el alimento tiende a desintegrarse rápidamente después de permanecer varias horas en el agua, o bien cuando la temperatura se encuentra arriba de los 15 °C. En Baja California, las temperaturas son mayores a esa durante casi todo el año aún durante la noche, lo cual hace que el problema de estabilidad sea mayor en nuestra región. En otras zonas de cultivo de abulón como lo son Japón, Canadá, Australia, Nueva Zelanda, Sudáfrica o Chile, se presentan temperaturas inferiores a las nuestras por lo que el problema de estabilidad para ellos no es tan difícil de solucionar.

* BIOTEC AS Strandgt 74, Tromsø, Noruega

En el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la U.A.B.C se trabaja desde 1991 en el desarrollo de dietas artificiales para abulón con ingredientes de la región. De esta manera, desperdicios pesqueros, en forma de ensilado han sido aprovechados como única fuente de proteína, o en combinación con otros ingredientes locales. Con esto se ha podido detectar que el abulón crece de manera similar o mejor que con otras fuentes proteínicas o comparado con alimentos comerciales (Guzmán y Viana, 1998). En parte, debido a la alta atracción y gustocidad que presenta el ensilado como ingrediente en dietas para abulón (Viana *et al.*, 1994; Rivero y Viana, 1996), así como por el adecuado aprovechamiento de la proteína que contiene. Sin embargo, una desventaja ha sido su baja estabilidad y alto lavado de nutrimentos, lo que ha motivado el estudio de esta área.

En el estudio de dietas artificiales para *Haliotis fulgens*, elaborados con una mezcla de ensilados de pescado crudo y cocido, aglutinados con alginato de sodio (10%), se reportó un crecimiento significativamente más alto que con macroalgas (Viana, *et al.*, 1996), donde se observó que el lavado de proteína soluble no es un reflejo de la estabilidad, ya que la dieta con ensilado crudo mostró la mayor pérdida de proteína soluble pero su estabilidad fue alta en comparación con el alimento con ensilado cocido, por lo tanto se estima que el lavado de proteína soluble es independiente de la pérdida de materia seca en el agua (López y Viana, 1995; Viana *et al.*, 1996).

Guzmán y Viana (1998) evaluaron dos dietas experimentales, una con harina de

pescado y otra con vísceras de abulón enlazadas con alginato de sodio (4%), en contraste con un alimento comercial. En este trabajo, la menor estabilidad fue observada en las dietas experimentales con relación a la dieta comercial. De esta manera, se planteó la necesidad de realizar estudios posteriores para mejorar la estabilidad de las dietas en desarrollo, con el propósito de reducir la pérdida de nutrientes y el costo del alimento.

El uso de alginato de sodio, en dietas artificiales para juveniles de *H. fulgens*, formuladas con 1, 3, 5 y 20 % del ficocoloide, mostró que el alginato puede ser utilizado en un 1% sin afectar la pérdida de materia seca de las dietas y el crecimiento de los organismos. De forma complementaria se señaló de nuevo la necesidad de mejorar la retención de macro y micro constituyentes (Monje-Ariza, 1994).

En la búsqueda por una mejor estabilidad, Durazo (1997) analizó la influencia del contenido de varios ficocoloides como el alginato, agar y carragenano, cada uno de ellos por separado, a varias concentraciones (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5%). Si bien este trabajo no es concluyente, se pudo observar que no existieron diferencias significativas aparentes entre los diferentes ficocoloides, y que todos sirvieron aún en cantidades bajas. Sin embargo, como matriz enlazante en todas las dietas, Durazo (1997) utilizó almidón gelatinizado, por lo que se discute el posible enmascaramiento del almidón sobre el uso de los ficocoloides. Es por esto, que en el presente trabajo se analizaron diferentes dietas elaboradas con diversos enlazantes en combinación con el almidón gelatinizado o no gelatinizado como factor, para explicar el posible efecto de ambos.

OBJETIVO

Elaborar una dieta óptima para el cultivo de abulón, mediante el uso de enlazantes como la gelatina y el agar, junto con el almidón no gelatinizado y gelatinizado para observar si existe un posible efecto coadyuvante, y así buscar el disminuir el lavado de nutrientes y mejorar la estabilidad del alimento.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Determinar el porcentaje de pérdida de materia seca a las 12 horas de inmersión en agua de mar a 17 ° C.
- 2) Determinar el porcentaje de pérdida de proteína y carbohidratos solubles a temperatura controlada de laboratorio a 17 ° C a los tiempos de 2,4,6,12 y 24 horas en condiciones de agitación constante.

HIPÓTESIS

Si los enlazantes incluidos en la dieta se ligan a los nutrientes, la pérdida de materia seca en el agua y el lavado de los nutrientes solubles, va a disminuir.

Ho.- La presencia de enlazantes no disminuye la pérdida de materia seca y nutrientes.

Ha.- La presencia de enlazantes disminuye la pérdida de materia seca y nutrientes con mejoría de la estabilidad.

MATERIAL Y METODOS

ALIMENTO

Con el objeto de probar el agar y gelatina como enlazantes y su efecto con el almidón, se desarrollaron dos bloques de tratamientos, uno con el almidón no gelatinizado (**Bloque I**) y otro con el almidón gelatinizado (**Blque II**). Ambos bloques contenían los mismos tratamientos con agar, gelatina y gelatina enzima en concentraciones iguales.

Bloque I Almidón no gelatinizado:

Tratamientos: 1	Agar al 0.5 %
2	Gelatina 6 %
3	Gelatina 6 % con enzima 0.03 %
4	Control sin enlazante

Bloque II Almidón gelatinizado:

Tratamientos: 5	Agar al 0.5 %
6	Gelatina 6 %
7	Gelatina 6 % con enzima 0.03 %
8	Control sin enlazante

En el alimento se utilizó harina de pescado como fuente principal de proteína, y como atrayente o complemento de proteína el ensilaje de atún. El ensilaje se preparó de acuerdo a lo descrito por Viana *et al.* (1993b), para esto, los subproductos de atún se mezclaron con 2.6% de ácido fosfórico, 2.6% de ácido cítrico y 0.1% de benzoato de sodio como conservador. Los ingredientes se mezclaron hasta obtener una mezcla homogénea, la cual fue guardada en cubetas plásticas durante 60 días a temperatura ambiente, posteriormente refrigeradas a 4 °C hasta su uso.

Los otros ingredientes fueron incluidos según lo recomendado por Uki *et al.* (1985) y Uki y Watanabe (1992). La mezcla de vitaminas y minerales según lo reportado por Hahn (1989) y el ensilaje fue suministrado en baja proporción según lo sugerido por Raa (1994). Agar, gelatina y gelatina con la enzima transglutaminasa comercial (donada por Jan Raa) fueron utilizados como enlazantes en combinación con almidón no gelatinizado y gelatinizado. (Tabla I).

Para el **bloque I** (almidón no gelatinizado): todos los ingredientes fueron mezclados de manera simultánea en una batidora semi industrial Kitchen Aid ®, por espacio de 4 minutos para lograr su perfecta incorporación. Enseguida se agregó el almidón en frío disuelto en agua, y se mezcló nuevamente. Posteriormente los enlazantes se incorporaron de la manera siguiente:

Agar.- Se disolvió en 50 mL de agua mediante calentamiento gradual a 65 °C para obtener un líquido transparente y espeso que se incorporo a la dieta.

Gelatina.- Se hidrató con 100 mL agua fría y después se calentó por arriba de los 90 °C para lograr su completa fusión. Se obtuvo una solución líquida y viscosa que se incorporó a la dieta.

Gelatina-enzima.- El proceso para la gelatina fue igual al anterior, solo que la enzima se agregó a las harinas para lograr su completa integración.

Para el **bloque II** (almidón gelatinizado): todos los ingredientes fueron mezclados en una batidora semi industrial Kitchen Aid ®, por espacio de 4 minutos, se obtuvo un polvo homogéneo. A continuación el almidón disuelto en agua fría se calentó a 75 °C (Ross, 1992) se logró una pasta blanca espesa, la cual se incorporó con los otros ingredientes y formó una masa pegajosa, a la cual se le agregaron los enlazantes igual que en el **bloque I**.

Como siguiente paso, cuando ambos bloques y tratamientos (2x4) que contienen el enlazante, se mezclaron durante 4 minutos y formaron una masa completamente homogénea, se extendieron a mano con un rodillo de madera hasta que se obtuvo un grosor de 3 mm, que se corto con cuchillo cuadros de 1x1 cm. Por ultimo las dietas se

secaron en un horno de aire forzado a 50 °C de temperatura durante 24 horas. El alimento seco se envaso en bolsas de polietileno etiquetadas y se guardo a temperatura ambiente. (Fig. 1)

Tabla I. Composición de las dietas artificiales evaluadas. Valores en porcentaje de peso seco. Los diferentes enlazantes fueron probados con almidón no gelatinizado(a), almidón gelatinizado(b) y un control sin enlazante.

Tratamiento No.	1	2	3	4	5	6	7	8
	Aa	Ga	GEa	Ca	Ab	Gb	Geb	Cb
Tipo de Almidón	NG	NG	NG	NG	G	G	G	G
INGREDIENTES	%	%	%	%	%	%	%	%
Harina de pescado	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5	29.5
Harina de algas	10	10	10	10	10	10	10	10
Harina de maíz	12	12	12	12	12	12	12	12
Harina de soya	5	5	5	5	5	5	5	5
Celulosa	8	8	8	8	8	8	8	8
Almidón de maíz	23.85	17.35	17.32	24.36	23.85	17.35	17.32	24.36
Ensilaje	5	5	5	5	5	5	5	5
Mezcla minerales	4	4	4	4	4	4	4	4
Mezcla vitaminas	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Stay C	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Benzoato Sodio	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Metionina	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloruro Colina	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
BTH	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Agar	0.5				0.5			
Gelatina		6	6			6	6	
Enzima transglutaminasa			0.03				0.03	

1. ANG con agar 0.5% Aa
2. ANG con gelatina 6% Ga
3. ANG con gelatina 6% y enzima transglutaminasa 0.03% GEa
4. ANG sin enlazante Ca
5. AG con agar 0.5% Ab
6. AG con gelatina 6% Gb
7. AG con gelatina 6%y enzima transglutaminasa 0.03% GEb
8. AG sin enlazante Cb

ANG = Almidón no gelatinizado

AG = Almidón gelatinizado



Figura 1. Muestra del alimento balanceado para abulón

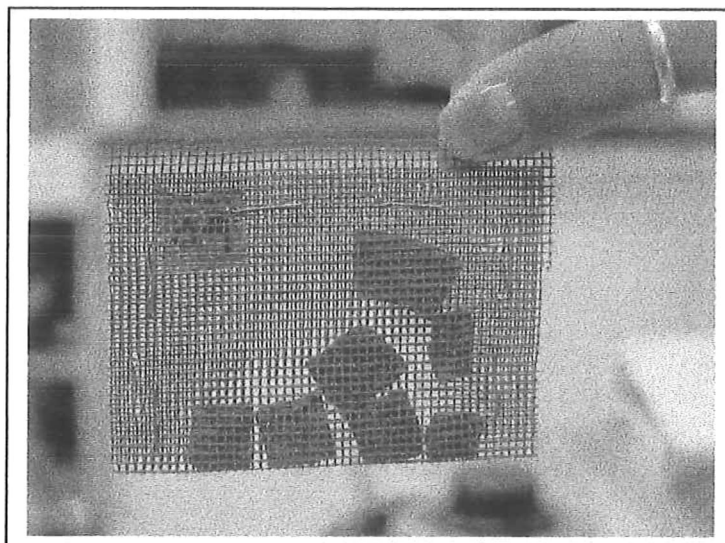


Figura 2. Malla para la determinación de estabilidad (porcentaje de pérdida de materia seca) del alimento para abulón.

ANÁLISIS PROXIMAL

La proteína total se determinó para cada dieta experimental y control con cuatro réplicas por el método microkjeldahl (A.O.A.C.,1990). El cual se basa en la combustión en húmedo de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores para reducir el nitrógeno orgánico a amoníaco. Se utilizaron 50 miligramos de muestra seca y la proteína total se obtuvo del resultado de la multiplicación del nitrógeno total (porcentaje) por el factor 6.25.

La cantidad de lípidos totales se determinó para cada dieta y control con cuatro réplicas mediante la extracción de Metanol-Cloroformo (Bligh y Dyer, 1959) la cual se basa en la homogeneización de alimentos húmedos con metanol y cloroformo en proporción tal que se forma una sola fase miscible con el agua del alimento. Al agregar mayores cantidades de cloroformo y agua, se separan dos fases con el material lipídico contenido en la capa de cloroformo. Trescientos miligramos de muestra seca fue utilizada para cada análisis. La grasa cruda se calculó gravimétricamente.

Para la evaluación de cenizas, se calcinaron 1.5 g de cada dieta y los controles, por triplicado, a 550-600 °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.

ESTABILIDAD

Se define como la materia seca remanente del alimento balanceado después de estar inmersos en agua de mar durante 12 horas. Para este análisis, se tomó una muestra de 1.5 g de cada alimento y los controles junto con 4 réplicas. Estas fueron entonces sumergidas en cubetas de plástico de 5 litros con agua de mar a flujo de aire y agua constante durante 12 horas. Pasado este tiempo, las muestras y los controles fueron retirados y secados durante 24 horas a 105 °C. La materia seca o sólidos totales remanentes se determinaron por gravimetría como porcentaje de pérdida del total de la dieta, expuesta mediante la siguiente expresión:

% Estabilidad = (materia seca inicial – materia seca final)*100/ peso muestra inicial.

LAVADO

El lavado se realizó con muestras de 1.5 g de cada alimento y los controles, con 4 réplicas. Las muestras se colocaron en vasos de precipitado con 30 mL de agua de mar sintética (McLachlan, 1964), durante 24 horas a 17 °C con agitación constante proporcionada por un agitador Mistral Multi-mixer 4600 de Lab-line Instrumental ® . Para calcular la velocidad de lavado de nutrientes, se tomaron alícuotas de 1ml a diferentes tiempos (2, 4, 6, 12 y 24 horas) según descrito por Viana *et al.* (1996). Estas

alícuotas fueron utilizadas para el análisis posterior de proteínas y carbohidratos solubles.

El lavado de proteína de las dietas experimentales se estimó como la pérdida en agua de mar de la proteína soluble equivalente, mediante el método de Lowry *et al.* (1951) expresado como mg de proteína equivalente de suero de albúmina de bovino (SAB)/g de alimento.

El lavado de carbohidratos se determinó por el método de antrona con una solución de H₂SO₄-tiourea y antrona. Se utilizó glucosa para la curva de calibración (50 a 500 µg/mL). Los carbohidratos se reportaron como el porcentaje de pérdida comparado con el contenido de carbohidratos totales de la dieta.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos crudos de estabilidad, lavado de proteína y carbohidratos se hizo estadística descriptiva para obtener promedios, medias, desviaciones estándar y errores estándar.

Como paso siguiente se efectuaron análisis factoriales de dos vías para los datos de estabilidad, se usó como factor **a.**- tipo de almidón (no gelatinizado o gelatinizado) y como factor **b.**- tipo de enlazante (agar, gelatina, gelatina-enzima y control). Para

detectar posibles interacciones se hicieron comparaciones múltiples por el método de Student-Newman-Keuls.

Con los resultados de lavado se hicieron análisis factoriales de tres vías donde los factores fueron: **a.-** almidón no gelatinizado o gelatinizado; **b.-** tipo de enlazante; **c.-** tiempo de inmersión en agua de mar; 2, 4, 6, 12 y 24 horas, y para posibles interacciones se realizaron comparaciones múltiples por el método de Student-Newman-Keuls.

Se utilizó el paquete estadístico Sigma-Stat 2.0 para Windows.

RESULTADOS

El análisis proximal mostró que no hay una diferencia significativa entre los tratamientos con agar, gelatina y control para el bloque de almidón no gelatinizado y solo el tratamiento de gelatina-enzima en este mismo bloque presentó valores significativamente altos. En el bloque con almidón gelatinizado no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con agar, gelatina, gelatina-enzima y control en cuanto a su composición de proteína total.

En el contenido de grasa cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, donde los valores se muestran en la Tabla II.

Tabla II. Composición proximal de las diferentes dietas experimentales y control con almidón no gelatinizado (a) y almidón gelatinizado(b).

Tratamiento	Proteína Cruda %	Grasa Cruda %	Cenizas	Extracto Libre N % *
Aa	27.65	4.15	12.06	56.16
Ga	28.26	3.41	11.70	56.61
Gea	30.15	3.55	14.35	51.94
Ca	29.98	4.42	11.61	53.98
Ab	25.61	1.35	13.38	58.89
Gb	26.37	1.44	14.24	57.93
Geb	28.06	2.23	14.81	54.89
Cb	26.37	2.35	13.05	58.21
Promedio	0.054	<0.001	0.003	<0.001
1.Almidón no gelatinizado con agar 0.5%		Aa		
2.Almidón no gelatinizado con gelatina 6%		Ga		
3.Almidón no gelatinizado con gelatina 6% y enzima transglutaminasa 0.03%			GEa	
4.Almidón no gelatinizado sin enlazante		Ca		
5.Almidón gelatinizado con agar 0.5%	Ab			
6.Almidón gelatinizado con gelatina 6%	Gb			
7.Almidón gelatinizado con gelatina 6%y enzima transglutaminasa 0.03%	GEb			
8.Almidón gelatinizado sin enlazante	Cb			

Para la estabilidad de alimento balanceado se encontró, que después de 12 horas de inmersión en agua de mar, se muestran valores de materia seca remanente que van de 76.8 % a 84.1 % sin observarse diferencias significativas ($P= 0.556$). Donde el valor más alto, o sea el de menor porcentaje de pérdida se reportó para el tratamiento de gelatina-enzima con almidón gelatinizado, mientras que el valor mas bajo, o sea el de mayor porcentaje de pérdida, se reportó para el tratamiento de agar con el almidón no gelatinizado (Tabla III).

En el análisis factorial de 2 vías, se encontró que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, el tipo de almidón (no gelatinizado o gelatinizado) y las interacciones entre tipo de almidón y los enlazantes, resultados que se presentan en la Tabla IV.

Tabla III. Promedios de estabilidad, contenido de proteína, lavado de proteína y carbohidratos a diferentes tiempos de las dietas experimentales y controles con almidón no gelatinizado (a) y almidón gelatinizado (b), se incluye el error estándar para la estabilidad en paréntesis.

Tratamiento	Estabilidad en % de materia remanente	Contenido de proteína en %	Lavado en % de proteína perdida / 100 g de proteína contenida					Lavado en % de carbohidratos perdidos / 100 g de carbohidratos contenidos				
			2 hrs	4 hrs	6 hrs	12 hrs	24 hrs	2 hrs	4 hrs	6 hrs	12 hrs	24 hrs
Aa	76.8(3.0)	27.7	30.9	33.0	30.5	28.1	28.4	6.7	7.4	6.7	6.3	7.0
Ga	83.6(0.2)	28.3	21.3	27.0	23.7	24.2	24.7	3.5	4.1	4.4	4.5	4.7
GEa	83.9(0.5)	30.2	18.0	19.4	19.6	21.5	22.3	3.3	3.9	4.2	5.0	5.0
Ca	77.1(10.7)	30.0	27.3	28.5	28.7	26.6	28.4	7.2	7.3	6.8	6.9	13.7
Ab	79.9(9.4)	25.6	8.0	9.6	11.5	11.9	13.9	1.5	2.0	2.4	2.9	5.2
Gb	81.2(2.9)	26.4	10.1	12.8	14.5	15.7	16.4	1.3	2.2	2.5	3.0	5.0
GEb	84.1(0.5)	28.1	12.8	14.1	14.3	17.0	17.4	1.5	1.9	2.4	3.8	5.0
Cb	82.6(3.9)	26.4	10.1	13.7	12.8	16.0	16.5	2.5	3.1	3.9	4.1	5.2

1 Columna con los tratamientos

2 Remanente en % después de 12 horas de inmersión

3 Proteína total, calculado con el porcentaje total de nitrógeno por 6.25

4 Promedios de lavado para proteína equivalente a los mg de albúmina de bovino

5 Promedios para carbohidratos calculados en mg de glucosa

Tabla IV. Análisis de varianza de dos factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante) para la estabilidad de los "pellets" después de 12 horas de inmersión en agua de mar con flujo constante. Comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls para detectar posibles interacciones entre almidón y enlazantes.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Valores de F	Valores de P
Tipo de almidón	1	20.432	20.432	0.690	0.414
Tipo de enlazante	3	157.903	52.634	1.777	0.178
Tipo de almidón por enlazante	3	71.102	23.701	0.800	0.506
Residuo	24	710.901	29.621		
Total	31	960.338	30.979		

Los resultados del lavado de proteína, dado como el porcentaje de proteína soluble perdida en relación con el contenido de proteína total, se muestran en la Tabla III, donde se observa que para ambos bloques de almidón no gelatinizado y almidón gelatinizado el porcentaje de proteína perdida se incrementa conforme avanza el tiempo.

Para estos mismos resultados de lavado, se observó después del análisis factorial de tres vías, que se muestran diferencias significativas entre el tipo de almidón (no gelatinizado o gelatinizado), tipo de enlazante, tiempo de inmersión y la interacción entre almidón y enlazante, y almidón y tiempo. Sin embargo no hubo diferencias significativas entre las interacciones de enlazantes, tiempo y almidón, y enlazante y tiempo.

El estudio de comparaciones múltiples mostró diferencias significativas entre el bloque de almidón no gelatinizado y el bloque de almidón gelatinizado. Además, mostró similitudes entre el control y agar dentro del tipo de enlazante, así como entre los diferentes niveles de tiempo no se muestran diferencias entre 12 y 6 horas, 6 y 4 horas y 4 y 2 horas.

Entre los enlazantes dentro del almidón gelatinizado no se observaron diferencias entre gelatina vs gelatina-enzima, mientras que entre los demás tratamientos si hay diferencias, y dentro del bloque de almidón no gelatinizado, solo el control vs gelatina-enzima no presentó diferencias significativas.

Al comparar el enlazante entre los bloques de almidón, encontramos que para los tratamientos de gelatina no hay diferencia significativa, mientras que para los tratamientos de agar, gelatina-enzima y control si hay una diferencia significativa (TablaV).

Tabla V. Análisis de varianza (ANOVA de tres vías) para el **lavado de proteína** de las dietas experimentales y sus controles con los siguientes tres factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante; c.- 2, 4, 6, 12 y 24 horas de inmersión en agua de mar). Además de comparaciones múltiples por el método Student-Newman-Keuls para detectar interacciones.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Medias de cuadrados	Valor de F	Valor de P
Tipo de almidón	1	5593.875	5593.875	1185.124	<0.001
Tipo de enlazante	3	229.517	76.506	16.209	<0.001
Tiempo inmersión	4	185.192	46.298	9.809	<0.001
Almidón x enlazante	3	1086.824	362.275	76.752	<0.001
Almidón x tiempo	4	122.682	30.670	6.498	<0.001
Enlazante x tiempo	12	69.107	5.759	1.220	0.278
Almidón x enlazante x tiempo	12	100.949	8.412	1.782	0.059
Residuo	115	542.809	4.720		
Total	154	7864.365	51.067		

Comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls				
Comparación	Dif de medias	p	Q	P
Factor: tipo de almidón (gelatinizado o no) No gelatinizado vs gelatinizado	12.070	2	48.685	Si
Factor: Tipo de enlazante				
Control vs gelatina / enzima	2.965	4	8.631	Si
Control vs gelatina	1.878	3	5.466	Si
Control vs agar	0.251	2	0.702	No
Agar vs gelatina / enzima	2.714	3	7.591	Si
Agar vs gelatina	1.627	2	4.550	Si
Gelatina vs gelatina / enzima	1.087	2	3.165	Si
Factor: Tiempo (horas)				
12 vs 24	12.230	5	15.583	Si
12 vs 2	1.911	4	4.978	Si
12 vs 4	1.407	3	3.665	Si
12 vs 6	0.775	2	1.975	No
6 vs 24	11.456	4	14.657	Si
6 vs 12	1.136	3	3.013	No
6 vs 4	0.632	2	1.677	No
4 vs 24	10.823	3	13.921	Si
4 vs 2	0.504	2	1.367	No
2 vs 24	10.319	2	13.273	Si

Factor : enlazante dentro de almidón gelatinizado				
Agar vs gelatina / enzima	4.537	4	8.594	Si
Agar vs gelatina	3.761	3	7.125	Si
Agar vs control	2.248	2	4.258	Si
Control vs gelatina / enzima	2.289	3	4.456	Si
Control vs gelatina	1.514	2	2.946	Si
Gelatina vs gelatina / enzima	0.776	2	1.510	No
Factor: enlazante dentro de almidón no gelatinizado				
Control vs agar	13.887	4	27.028	Si
Control vs gelatina	11.597	3	22.572	Si
Control vs gelatina / enzima	0.508	2	0.980	No
Gelatina / enzima vs agar	13.378	3	25.800	Si
Gelatina / enzima vs gelatina	11.089	2	21.385	Si
Gelatina vs agar	2.289	2	4.456	Si
Factor : tipo de almidón dentro de agar				
Almidón gelatinizado vs almidón no gelatinizado	3.761	2	7.125	Si
Factor : tipo de almidón dentro de gelatina				
Almidón gelatinizado vs almidón no gelatinizado				0.490
Factor : tipo de almidón dentro de gelatina/enzima				
Almidón gelatinizado vs almidón no gelatinizado				1.000
Factor : tipo de almidón dentro de los controles				
Almidón gelatinizado vs almidón no gelatinizado				<0.001
Factor: tiempo dentro de almidón gelatinizado				
12 vs 24	8.634	5	6.6	Si
12 vs 6	2.965	4	5.156	Si
12 vs 4	1.877	3	3.265	No
12 vs 2	0.251	2	0.433	No
2 vs 24	8.383	4	6.399	Si
2 vs 6	2.714	3	4.685	Si
2 vs 4	1.627	2	2.808	Si
4 vs 24	6.757	3	5.165	Si
4 vs 6	1.087	2	1.891	No
6 vs 24	5.669	2	4.333	Si

Factor: tiempo dentro de
almidón no gelatinizado

12 vs 6	19.267	5	14.727	Si
12 vs 2	13.598	4	23.647	Si
12 vs 4	10.633	3	18.491	Si
12 vs 24	1.627	2	2.808	Si
24 vs 6	17.640	4	13.464	Si
24 vs 2	11.971	3	20.665	Si
24 vs 4	9.006	2	15.547	Si
4 vs 6	8.634	3	6.600	Si
4 vs 2	2.965	2	5.156	Si
2 vs 6	5.669	2	4.333	Si

Los resultados obtenidos del lavado de carbohidratos, se reportan como el porcentaje de pérdida de los mismos con relación a su contenido total inicial y se muestran en la Tabla III, donde se observa que los tratamientos con agar y el control con almidón no gelatinizado presentaron un valor alto de pérdida desde las dos primeras horas de lavado. Para los demás tratamientos, la salida de carbohidratos fue incrementándose de manera constante con el paso de las horas.

Del análisis factorial de tres vías se observó los siguientes resultados: Hay diferencias entre el tipo de almidón (no gelatinizado o gelatinizado), tipo de enlazante y las horas de inmersión. Hay también diferencias entre las interacciones de los bloques de almidón y los enlazantes, los bloques de almidón y los tiempos estudiados. No se observaron diferencias entre las interacciones de los enlazantes por los tiempos probados y de los bloques de almidón entre los enlazantes por los tiempos probados. En las comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls para grupos aislados se observó que entre el bloque almidón no gelatinizado y almidón gelatinizado todos los enlazantes presentan diferencias significativas para los periodos de 2, 4 y 6 horas. Sin embargo, dentro del bloque almidón no gelatinizado no hay diferencias significativas entre el control vs agar y entre la gelatina vs gelatina-enzima para las 2, 4 y 6 horas.

Tabla VI. Análisis de varianza (ANOVA de tres vías) para el **lavado de carbohidratos** de las dietas experimentales y controles con los siguientes tres factores (a.- almidón no gelatinizado o gelatinizado; b.- tipo de enlazante; c.- 2, 4, 6, 12 y 24 horas de inmersión en agua de mar). Además de un estudio de comparaciones múltiples por el método de Student-Newman-Keuls para detectar posibles interacciones entre los factores.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Valor F	Valor P
Tipo de almidón	1	320.186	320.186	519.894	<0.001
Tipo de enlazante	3	178.608	59.536	96.670	<0.001
Tiempo de inmersión	4	146.339	36.585	59.404	<0.001
Almidón x enlazante	3	93.158	31.053	50.421	<0.001
Almidón x tiempo	4	10.823	2.706	4.393	<0.001
Enlazante x tiempo	12	42.304	3.525	5.724	0.278
Almidón x enlazante x tiempo	12	68.418	5.701	9.258	0.059
Residuo	120	73.904	0.616		
Total	159	933.743	5.873		

Comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls

Comparación	Dif de medias	P	q	P
Factor: Tipo de almidón (gelatinizado o no gelatinizado) dentro de agar a las 2 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	5.280	2	13.456	Si
Factor: Tipo de almidón (gelatinizado o no gelatinizado) dentro de gelatina a las 2 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	2.210	2	5.632	Si
Factor: Tipo de almidón (gelatinizado o no gelatinizado) dentro de gelatina/enzima a las 2 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	1.768	2	4.504	Si
Factor: Tipo de almidón (gelatinizado o no gelatinizado) dentro del control a las 2 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	4.705	2	11.991	Si

Factor: Enlazante dentro de almidón no gelatinizado a las 2 horas				
Control vs gelatina/ enzima	3.982	4	10.149	Si
Control vs gelatina	3.693	3	9.410	Si
Control vs agar	0.498	2	1.268	No
Agar vs gelatina/enzima	3.485	3	8.882	Si
Agar vs gelatina	3.195	2	8.142	Si
Gelatina vs gelatina/enzima	0.290	2	0.739	No
Factor: Almidón dentro de agar a las 4 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	5.355	2	13.647	Si
Factor: Almidón dentro de gelatina a las 4 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	1.927	2	4.912	Si
Factor: Almidón dentro de gelatina/enzima a las 4 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	2.043	2	5.205	Si
Factor: Almidón dentro del control a las 4 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	4.188	2	10.672	Si
Factor: Enlazante dentro de almidón no gelatinizado a las 4 horas				
Agar vs gelatina/enzima	3.452	4	8.799	Si
Agar vs gelatina	3.245	3	8.270	Si
Agar vs control	0.065	2	0.166	No
Control vs gelatina/enzima	3.387	3	8.633	Si
Control vs gelatina	3.180	2	8.104	Si
Gelatina vs gelatina/enzima	0.207	2	0.529	No
Factor: Almidón dentro de agar a las 6 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	4.237	2	10.799	Si
Factor: Almidón dentro de gelatina a las 6 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	1.853	2	4.721	Si
Factor: Almidón dentro de gelatina/enzima a las 6 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	1.812	2	4.619	Si
Factor: Almidón dentro del control a las 6 horas				
No gelatinizado vs gelatinizado	2.927	2	7.461	Si

**Factor: Enlazante dentro de
almidón no gelatinizado a las 6
horas**

Control vs gelatina/enzima	2.585	4	5.588	Si
Control vs gelatina	2.457	3	6.263	Si
Control vs agar	0.138	2	0.350	No
Agar vs gelatina/enzima	2.447	3	6.237	Si
Agar vs gelatina	2.320	2	5.913	Si
Gelatina vs gelatina/enzima	0.128	2	0.325	No

DISCUSIÓN

En acuicultura, se enfrenta un problema en la elaboración de alimento balanceado, con la estabilidad y el lavado de nutrimentos. Si el alimento tiene una mala estabilidad, la calidad del agua disminuye debido a que los residuos liberados la enturbian y merman la cantidad de oxígeno disuelto disponible, lo que provoca problemas en cuanto a contaminación y posibles crecimientos de bacterias. Estos pueden dar lugar a sucesiones de poblaciones no deseadas lo que altera el ecosistema del cuerpo de agua y por ende dar lugar a situaciones patológicas ocasionadas por bacterias oportunistas. Por otro lado, para contrarrestar la pérdida de materia seca en el agua y mantener el nivel óptimo de nutrimentos en la dieta, estos se tienen que poner en cantidades mayores a las requeridas, lo cual incrementa el costo del alimento y lo hace poco accesible para pequeñas empresas. Otro aspecto importante que depende de la especie será el tiempo que tenga que permanecer el alimento en el agua, tiempo que podrá variar desde unos minutos hasta varias horas.

En el caso particular del abulón, éste problema se incrementa dado que es un organismo de hábitos nocturnos y lentos. Ya que el alimento debe permanecer por lo menos un periodo de 12 horas en el agua con el menor porcentaje de pérdida posible para asegurar que los nutrimentos lleguen hasta el abulón cuando estos sean consumidos.

Como se comentó con anterioridad, en un trabajo previo (Durazo, 1997) se

probaron diferentes ficocoloides donde se variaron las concentraciones mezcladas con almidón a fin de encontrar la combinación más efectiva para reducir el lavado e incrementar la estabilidad. Los resultados mostraron que cualquiera de los ficocoloides pudo integrarse en bajas concentraciones y que su incremento no mejoró la estabilidad. Sin embargo, ninguno de ellos resultó ser mejor que el control donde se utilizó almidón gelatinizado, y se concluyó que el agar puede traer ventajas sobre el carragenano y alginato de sodio en cuanto a manejo de la masa.

Ya que en dicho trabajo el problema de la estabilidad y el lavado de nutrientes no se resolvió del todo, se pensó que el almidón gelatinizado pudo enmascarar el efecto de los enlazantes, por tal motivo en el presente trabajo se probó el almidón no gelatinizado y gelatinizado en combinación con enlazantes como el agar antes probado, se comparó con la gelatina, la cual ha sido utilizada anteriormente por separado como enlazante, con buenos resultados en dietas para crecimiento de abulón (Guzmán y Viana, 1998). La enzima aquí empleada es utilizada de manera comercial como enlazante en combinación con la gelatina en dietas para erizo de mar (Raa, 1998).

En el presente trabajo se encontró que en el análisis proximal no hubo diferencias significativas entre la mayoría de los tratamientos. Esto era de esperarse ya que todos los ingredientes se mezclaron de manera muy cuidadosa. Solo el tratamiento de gelatina-enzima mostró mayor cantidad de proteína (de manera significativa). Esto es difícil de explicar ya que el contenido de la enzima, tiene una base proteica, incluida en

una pequeña proporción y no debió de haber resultado en un incremento significativo de la proteína.

Los resultados obtenidos en estabilidad no fueron los esperados, en el sentido de que fue imposible utilizar un enlazante con mejores propiedades, las diferencias de un 6% entre el valor máximo y el valor mínimo en los tratamientos no son significativas estadísticamente. Esto se debió a la alta variabilidad de las muestras dentro de los diferentes tratamientos, variabilidad que se debe seguramente a la gran fluctuación entre los "pellets" o comprimidos, de perder materia orgánica en el agua. Sin embargo, se pudo observar que hay valores altos o buenos de la estabilidad cuando el almidón se encuentra gelatinizado. Este hecho era de cierta manera esperado y comprueba la hipótesis inicial de que el almidón gelatinizado podría enmascarar el efecto de los diferentes enlazantes. Los principales productores de alimento hoy en día, utilizan las ventajas de los carbohidratos para enlazar sus dietas sin necesidad de agregar enlazantes. Esto debido a que al agregar el almidón no gelatinizado y al ser pasado a través de un peletizador o extrusor alcanza temperaturas tan altas que llega a gelatinizarse. El problema ocurre en este caso, como con el alimento para abulón donde trata de desarrollarse una tecnología donde se utiliza un tipo de maquinaria diferente, como lo es un formador de pasta o un extrusor en frío donde no hay presión o fricción, o bien, la elaboración de forma manual donde la presión ejercida por un rodillo de madera es muy baja. Por otro lado, se piensa que alimentos especiales, que tengan que permanecer mucho más tiempo en el agua requieran de un enlazante para reforzar la capacidad de los

carbohidratos. De esta manera, en Noruega se recomienda la utilización de un 5% de gelatina en la formulación de dietas secas para erizo de mar. En el presente trabajo se utilizó un 6% de gelatina sola y combinada con la enzima transglutaminasa para ambos grupos de almidón, donde se observó que la estabilidad de la gelatina-enzima en combinación con el almidón gelatinizado fue la mejor. Esto demostró que la gelatina, la enzima y el almidón gelatinizado son una buena opción para mejorar la estabilidad, aunque todavía falte encontrar la proporción exacta para determinar un porcentaje mínimo de pérdida como base.

En el lavado de proteínas, se encontraron diferencias significativas entre el bloque de almidón no gelatinizado y el bloque de almidón gelatinizado, este último, al aplicarse en caliente envuelve de manera uniforme los demás ingredientes para formar una malla que cubre todo el "pellet" o comprimido, mientras que entre los enlazantes encontramos que el agar y el control son similares con los valores de lavado más altos y casi constantes durante todo el periodo de prueba. Ahora bien, dentro del bloque con almidón gelatinizado se observó que para los enlazantes, solamente son similares la gelatina y gelatina-enzima con valores altos de pérdida en el lavado de proteína, lo cual se puede explicar por la alta concentración que se presenta de este componente, mientras que para el bloque con almidón no gelatinizado solo son similares el control y gelatina-enzima los cuales no presentan diferencias entre sí y tienen un alto lavado de proteína que va hasta el 30%, el cual se mantiene hasta las 24 horas.

Los resultados mostraron que en el grupo con almidón gelatinizado, el alimento es de aceptable calidad ya que el porcentaje de pérdida no es mayor al 10% para las dietas probadas, y para el grupo de almidón no gelatinizado la dieta de gelatina-enzima solo es de buena calidad ya que presenta un porcentaje de pérdida del 20%.

Ahora bien, al comparar los enlazantes por separado pero contra los dos tipos de almidón, se encontraron diferencias entre el control y el agar. En cambio, la gelatina y gelatina-enzima no muestran diferencia lo que significa que en ambos casos estas dietas son mejores que la de agar y el control.

En cuanto al tiempo se observó que para el grupo de almidón gelatinizado el lavado fue mayor durante las 6 primeras horas, y se redujo paulatinamente la velocidad de salida de las proteínas hasta el final del experimento, lo cual significa que no había mayor cantidad de solubles disponibles que pudieran salirse después de 6 horas de inmersión en el agua.

En el grupo de almidón no gelatinizado el lavado presentó valores altos desde el principio los cuales se mantuvieron constantes. Para el caso de gelatina-enzima los valores de lavado fueron más bajos y aumentaron a medida que transcurría el tiempo. Esta diferencia entre los tratamientos de ambos bloques significa que la presencia de almidón gelatinizado favorece la retención de carbohidratos solubles a lo largo del tiempo.

Otro punto importante es señalar que para ambos bloques de almidón, todos los enlazantes presentaron diferencias significativas para las 6 primeras horas del experimento, esto quizá debido a que en este periodo de tiempo los carbohidratos fueron lavados de manera constante. Por otro lado al analizar el bloque de almidón no gelatinizado, se observó que no hay diferencias entre agar vs control y gelatina vs gelatina-enzima para las 2, 4 y 6 horas, esto quizá obedezca a que se comportan de manera similar las gelatinas y la enzima por un lado y el agar y el control por otro.

En este trabajo se observó que la gelatina da un ligero beneficio a la dieta cuando se utiliza en combinación con el almidón gelatinizado, esto se podría mejorar a largo plazo con modificaciones a la técnica o al probar nuevas combinaciones para las dietas.

Por otra parte se observó que la enzima transglutaminasa utilizada, no fue capaz de proporcionar una ventaja adicional al uso de gelatina, esto se pudo deber a que los ingredientes utilizados para esta dieta son muy diferentes a los utilizados para las dietas de erizo, donde es usada con gran éxito en Noruega por el Dr. Prof. Jan Raa. Esta enzima trabaja creando enlaces peptídicos entre la proteína presente (lisina y el grupo carboxilo del ácido glutámico) al incrementar la red de gelificación alrededor y dentro del "pellet". Después de discutirlo con el Dr. Raa, se piensa que el problema pudo estar en el ensilaje de pescado, donde están presentes proteasas peptídicas las cuales pudieron haber influido en la formación de los enlaces peptídicos, donde en opinión del Dr. Raa la

mezcla debería ser calentada con todos los ingredientes, con el fin de inactivar las enzimas presentes. Con esto, se recomendó que para utilizar las propiedades óptimas de dicha enzima se debe de tratar nuevamente, así como considerar las recomendaciones descritas para obtener un "pellet" con una calidad óptima.

También se observó que el agar es un ingrediente difícil de utilizar, puesto que requiere de temperaturas muy altas para fundirse, y cuyo punto de gelificación es también alto por lo que se requiere de una temperatura mayor a los 50 °C para manejar la mezcla y formar el alimento antes de que gelifique, lo cual es difícil en un sistema donde no hay presión y/o fricción para mantener dichas condiciones, además de que el gel no se forma de manera que cubra y proteja a todos los ingredientes con lo cual no ayuda en la compactación del mismo.

CONCLUSIÓN

El uso del almidón como enlazante en las dietas para abulón es la mejor opción en su modalidad gelatinizado, enlaza a los demás ingredientes e impide el lavado y mejora la estabilidad, al evitar con esto la pérdida de nutrientes.

El uso del almidón no gelatinizado disminuye las propiedades enlazantes del alimento, da como consecuencia la mala estabilidad del mismo, lo que provoca el lavado de los nutrientes en un periodo de tiempo muy corto.

La gelatina en combinación con almidón gelatinizado mejora la estabilidad del alimento y da una mejor apariencia y consistencia, debido a su propiedad de formar redes que enlazan a los demás ingredientes, lo que posiblemente provoque el retardo en la entrada de agua y por consiguiente la salida de nutrientes, y así mejorar la estabilidad del alimento.

El uso del agar no es recomendable para las dietas de abulón, por la dificultad que presenta fundirlo e incorporarlo a los demás ingredientes debido a que requiere de muy alta temperatura, con el inconveniente de que el tiempo de gelificación es muy corto y no permite mezclarlo óptimamente.

RECOMENDACIONES

La estabilidad sigue siendo un factor importante dentro del estudio de las dietas artificiales, la cual se puede mejorar al estudiar la composición de la dieta, ya sea al probar diferentes ingredientes, nuevas técnicas de peletizado y/o combinación de enlazantes.

El uso de la enzima transglutaminasa, requiere de más práctica para elaborar dietas de abulón, ya que el ensilaje de pescado utilizado en la dieta contiene ácidos que inhiben las propiedades de dicha enzima. Otro punto que requiere de más estudio es el momento exacto de la adición a los ingredientes, ya que la temperatura a la cual actúa es fundamental para su total aprovechamiento.

Mientras se siga el estudio de como mejorar la estabilidad, se podrían modificar las técnicas de alimentación; distribuyendo el alimento en cantidades exactas y con un horario previamente establecido, y controlar la temperatura en los estanques y la limpieza en los mismos, esto con el fin de no mermar la calidad en el agua por el lavado de nutrientes.

LITERATURA CITADA

Association of Official Analytical Chemist A. O. A. C., 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official analytical Chemists. 15th Ed. Washington, DC, U. S. A., pp. 1298.

Arroyo, E., R. Flores-Aguilar, y E. Vázquez., 1996. Producción de diatomeas utilizadas como alimento de poslarvas de abulón rojo (*Haliotis rufescens*). Resúmenes Taller sobre Biología, Pesquería y Cultivo de Abulón en México, 21-24 octubre, Ensenada, B.C., p.1.

Bancomext, 1999. Banco de Comercio Exterior, México. Página de internet www.bancomext.org.mx

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., T. Hecht., J. Knauer y M. G. Dixon., 1994. The development of an artificial feed for abalone farming. South Afr. J. Sci. **90**:7-8.

D'Abramo, L. R. y J. D. Castell., 1997. Research Methodology. In: Crustacean Nutrition (L.R., D'Abramo, D.E. Conklin, and D.M. Akiyama eds.) World Aquaculture Society, pp. 3-25.

Dominy, W. G. y C. Lim., 1991. Performance of binders in pelleted shrimp diets. En: Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop. American Soybean Association, Singapore, pp.149-157.

Durazo, B. E., 1997. El uso de ficocoloides en dietas artificiales para abulón. Tesis de Maestría, FCM-IIO, UABC, Ensenada, B. C., pp. 70.

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.

Gorfine, H. K., 1991. An artificial diet for hatchery-reared abalone *Haliotis rubra*. Internal Report No. 190, Marine Science Laboratories, Queenscliff, Victoria, Australia, 34pp.

Guzmán, J. M. y M. T. Viana., 1998 Growth of abalone *Haliotis fulgens* fed diets with and without fish meal, compared to a commercial diet. *Aquaculture*, **165**:321-331.

Guzmán-del Prío, S. A., 1992. A review of the biology of abalone and its fishery in Mexico. En: Shepherd, S.A., Tegner, M.J.Guzmán-del Prío, S.A. (Eds.), *Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture*. Fishing News Books, Oxford, pp.341-360.

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.

Knauer J., P.J. Britz y T. Hecht.,1993. The effect of seven binding agents on 24 hour stability of an artificial weaning diets for the South African abalone, *Haliotis midae* (Haliotidae, Gastropoda). *Aquaculture*, **115**: 327-334.

Knauer, J., P. J. Britz y T. Hecht., 1996 Comparative growth performance and digestive enzyme activity of juvenile South African abalone, *Haliotis midae*, fed on diatoms and a practical diet. *Aquaculture*, **140**:75-85.

Kokini, J. L., 1992. Rheological properties of foods. En: Heldman, D.R. and Lund, D.B. (Eds.), *Handbook of Food Engineering*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-38.

López, L. M. y M. T. Viana., 1995. Determinación de la calidad del alimento elaborado con ensilaje de pescado crudo y cocido, para abulones juveniles de *Haliotis fulgens*. *Ciencias Marinas* **21**: 331-342.

Lowry, O. U., N. J. Rosebrough, 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., 1995. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. And *Haliotis discus hannai* Ino. III. Response of abalone to various levels for growth. *Aquaculture*, **134**: 65-80.

Mazón-Suástegui, J. M., M. Muciño-Díaz. y L. A. Bazúa-Sicre., 1996. Cultivo de abulón *Haliotis* spp. En: Casas-Valdéz, M y Ponce-Díaz, G (Eds.), Estudio Potencial Pesquero de y Acuicola de Baja California Sur, Volumen II. SEMARNAP, México, pp. 475-511.

McLachlan., 1964. En *Methods in Marine Zooplankton Ecology*.1992. Malbor, Florida. pp. 113.

McShane, P. E., H. K. Gorfine y I. A. Knuckey., 1994. Factors influencing food selection in the abalone *Haliotis rubra* (Mollusca: Gastropoda). *J. Exp. Biol. Ecol.*, **176**:27-37.

Monje-Ariza, H. 1994. El alginato de sodio como nutrimento o aglutinante en dietas para juveniles de abulón *Haliotis fulgens* (Phillips, 1845). Tesis de licenciatura, UABC., Fac. de Cs. Marinas, Ensenada, B.C., 47 pp.

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 shellfish Research, **17**: 667-671.

Oakes, F. R. y R. D. Ponte., 1996. The abalone market: opportunities for cultured abalone. Aquaculture, **140**: 187-195.

Raa, J. 1994. Fish Silaje: Successes and limitations as feed ingredient in aquaculture. Paper presented at the Fish Nutrition Workshop, 25-27 October, 1994, Singapore.

Raa, J. 1998. Oppforing av kråkeboller med tanke på okt utbytte og jevnere kvalitet av rogn til konsum. Rapport 2/1998 Fiskeriforskning, Norks Institutt for Fiskeri og Havbruksforskning AS, Norge.

Rivero, L. E. y M. T. Viana., 1996 Palatability effect of the pH, water stability and texture in artificial diets used for juvenile abalone *Haliotis fulgens* (Phillips, 1845). Aquaculture, **144**:353-362.

Ross, Y. H., 1992. Phase transitions and transformations in food systems. En: Heldman, D. R. y D. B. Lund. (Eds.), Handbook of Food Engineering. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 145-197.

Salas-Garza, A. E. y R. Searcy-Bernal., 1992. Desarrollo y estado actual del cultivo de abulón en México. En: Shepherd, S.A., M. J. Tegner, S. A. Guzmán-del Proo.(Eds.), Abalone of the World: Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Books, Oxford, pp.538-546.

Simpson, B. J. A., 1994. An investigation of diet management strategies for the culture of the South African abalone *Haliotis midae*. Thesis of Master of Science, University of Cape Town, 80 pp.

Tacon, A. G., 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. FAO ed. Roma Italia. pp. 288-300.

Uki, N., A. Kemuyama y T. Watanabe., 1985. Nutritional evaluation of several protein sources in diets for abalone *Haliotis discus hannai*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 51:1835-1839.

Uki, N. y T. Watanabe., 1992. Review of the nutritional requirements of abalone (*Haliotis* spp.) and development of more efficient artificial diets. En: S.A. Shepherd, M.J. Tegner and S.A. Guzmán del Prío (Editors), Abalone of the World. Biology, Fisheries and Culture. Fishing News Books, Oxford, pp. 504-517.

Viana, M. T., L. M. Lopez y A. Salas., 1993a. Diet development for juvenile abalone, *Abalone fulgens*, evaluation of two artificial diets and macroalgae. Aquaculture, 117: 149-156.

Viana. M. T. y C. Nava., 1993b. Ensilajes ácidos de pescado. Efecto de precalentamiento y de la adición de los ácidos fosfórico y cítrico sobre su calidad bioquímica. Ciencias Marinas, 19: 415-433.

Viana, M. T., M. Cervantes-Trujano y R. Solana-Sansores., 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets. Aquaculture, 127: 19-28.

Viana, M. T., L. M. López, Z. García-Esquivel y E. Méndez., 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. Aquaculture, 140: 87-98.