

795
2 eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO PIGMENTANTE DE LA Spirulina sp EN LA
TILAPIA HIBRIDA (Oreochromis sp)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

RODRIGO LUNA SERRANO

ASESORES : M. V. Z. MARCELA FRAGOSO CERVON
M. V. Z. ANA AURO DE OCAMPO



México, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EFFECTO PIGMENTANTE DE LA Spirulina sp
EN LA TILAPIA HIBRIDA (Oreochromis sp)**

**TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
POR
RODRIGO LUNA SERRANO**

**ASESORES: M.V.Z. MARCELA FRAGOSO CERVON.
M.V.Z. ANA AURO DE OCAMPO.**

SE ENNOBLECE LA VIDA

Cultivando tres cosas: la bondad, la sabiduría y la amistad.

Buscando tres cosas : la verdad, la filosofía y la comprensión.

Amando tres cosas: la caballerosidad, el valor y el servicio.

Gobernando tres cosas: el carácter, la lengua y la conducta.

Apreciando tres cosas: la cordialidad, el contento y la decencia.

Defendiendo tres cosas : el honor, los amigos y los débiles.

Admirando tres cosas: el talento, la dignidad y la gracia.

Excluyendo tres cosas: la ignorancia, la ofensa y la envidia.

Combatiendo tres cosas: la mentira, el ocio y la calumnia.

Conservando tres cosas: la salud, el prestigio y el buen humor.

DEDICATORIA

**A DIOS POR DARME
LA PACIENCIA Y LA CAPACIDAD
DE VENCER LOS OBSTACULOS.**

**CON TODO CARIÑO PARA MIS HERMANOS
QUE SIEMPRE ME APOYARON Y TUVIERON
FE EN MI.**

A LA MEMORIA DE MI PADRE.

AGRADECIMIENTOS

**CON TODO CARIÑO Y RESPETO A TODAS LAS PERSONAS QUE HAN
COLABORADO Y APOYADO PARA LA REALIZACION DE ESTE
TRABAJO.**

**AL DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ACUICOLA POR EL
APOYO BRINDADO PARA LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO
EN ESPECIAL A LA
BIOL. AMALIA ARMIJO, A LA M.V.Z. ANA AURO DE OCAMPO Y A LA
M.V.Z. MARCELA FRAGOSO, POR SU AMISTAD, SUS CONSEJOS
Y SU PACIENCIA.**

**AL CENTRO DE COMPUTO DE LA FMVZ.
POR SU AMISTAD Y POR SU APOYO.**

A MIS AMIGOS.

A MIS MAESTROS .

A MI H. JURADO.

A MI QUERIDA FACULTAD.

**A LOS ANIMALES,
CUANDO MIRO DETENIDAMENTE
LOS OJOS DE MIS PERROS EN ELLOS VEO
OTRO SER CON EL CUAL COMPARTO MI VIDA.**

RESUMEN

Luna Serrano Rodrigo. Efecto pigmentante de la Spirulina sp. en la Tilapia híbrida (Oreochromis sp.) (Bajo la asesoría de los M.V.Z. Marcela Fragoso Cervon y la M.V.Z. Ana Auro de Ocampo). Se probó el efecto pigmentante de la Spirulina sobre el músculo de la tilapia híbrida para lo cual se conformaron 7 lotes de 10 peces cada uno que fueron tratados con alimento adicionado con Spirulina de la siguiente manera, Lote 1 sin Spirulina (control), Lote 2 con 2.5% de Spirulina, Lote 3 con 5%; Lote 4 con 7.5%; Lote 5 con 10%; Lote 6 con 12.5% y el lote 7 con 15% ; El tratamiento se efectuó en siete acuarios de 40 litros respectivamente en donde el único manejo que se les realizó fue el cambio de agua cada 7 días durante 20 semanas al cabo de los cuales se determinó el color del músculo mediante una carta de colores; los resultados se analizaron mediante las pruebas estadísticas Kruskal-Wallis y U de Mann Whitney, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p < .05$).

INTRODUCCION

El gran interés que la spirulina ha causado durante los últimos años, no se debe únicamente a su uso industrial si no mas bien a su importancia biológica y fisiológica. Algunos de los carotenos contenidos en la spirulina son precursores de la vitamina A y tienen un papel esencial en el proceso óptico de los animales, incluyendo al organismo humano.

La spirulina como alimento contiene todo tipo de aminoácidos esenciales, (4, 17) ha sido ampliamente estudiada y actualmente se utiliza en:

- 1) Avicultura; para la cría de pollos, ya que favorece la ganancia de peso, así como el aumento en la pigmentación de carne, y el incremento en el número de huevos en la postura (25).
- 2) Acuicultura; en la alimentación de peces, moluscos y crustáceos (25).
- 3) Medicina; tiene alguna aplicación sobre todo en la cirugía, como anticoagulante y antibacteriano, se le ha reconocido un polieno antimicrobiano con acción fuertemente tóxica para hongos y levaduras, contiene un alto porcentaje de ácido gama-linoleico reconocido como hipotensor (11, 17).
- 4) Industria; tiene estima en el comercio industrial bajo el nombre de gomas vegetales, mucilagos, espesantes, derivados para cosméticos, detergentes, pinturas, lubricantes y otros aditivos (11).
- 5) Cocina; Se utiliza en los consomés, salsas o como entremés, el wacame en Japón(11).
- 6) Agricultura; Se utiliza para el mantenimiento de la fertilidad ya que su capacidad estriba en la fijación nitrógeno, especialmente en las regiones donde se cultiva arroz, la presencia de algas azules en los campos inundados reduce la necesidad de fertilizantes ricos en nitrógeno (24).

7) Piscicultura de ornato; Mejora el crecimiento, la coloración y la sobre vivencia. Sin embargo muy pocos estudios se han realizado sobre esta última y no se conoce a que nivel se presenta un mejor efecto pigmentante (11).

Generalidades de la tilapia.

La tilapia posee gran importancia potencial en la producción de proteína animal en aguas tropicales y subtropicales de todo el mundo particularmente en los países en desarrollo. Los atributos favorables que convierten a la tilapia en uno de los géneros más apropiados para la piscicultura son su gran resistencia física, rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, tiene una elevada productividad debido a su tolerancia a desarrollarse en condiciones de alta densidad, habilidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y amplio rango para salinidades, su capacidad de nutrirse a partir de una gran gama de alimentos naturales y artificiales.

Entre las características de la tilapia referidas destacan:

Su elevada tasa de crecimiento, aun cuando su alimentación este constituida por productos de bajo contenido proteínico. Acepta una amplia gama de alimentos que va desde algas, bacterias y detritos (que se desarrollan en forma natural en los estanques), hasta alimentos suplementarios derivados de subproductos agrícolas y animales, desechos agro industriales, vegetación acuática macroscópica, y por supuesto, alimentos balanceados de alto contenido proteínico. Soporta amplias variaciones de diversos parámetros fisicoquímicos del medio acuático; sin olvidar que existen rangos óptimos bien definidos como 20 C de temperatura, 3 mg./l de oxígeno, pH de 7 ,una dureza de agua de 75 mg. CaCo/l. Es tolerante a diversas enfermedades así como a sustancias tóxicas de variada índole (biológica, inorgánica y orgánica). Su ciclo de vida es corto y se reproduce en condiciones de cautiverio.

Sin embargo, presenta el inconveniente de ser sumamente prolífica; lo cual en caso de no controlarse adecuadamente eventualmente conduce al llamado enanismo de la población. Es decir, los individuos alcanzan la madurez sexual y se reproducen aun cuando sea talla es pequeña. La calidad de la carne de la tilapia es excelente con respecto a la buena cocina puesto que su textura es firme, es de color blanco y no posee huesos intermusculares, lo cual hace que constituya un pescado altamente apetecible (2, 10).

Características de la Spirulina.

Spirulina; es una alga cianofícea (azul-verde) en forma de filamento helicoidal, a esta configuración en espiral se debe el nombre de Spirulina, cada filamento contiene de 250 a 400 células y mide entre 200 y 300 micras de largo y de 5 a 10 micras de ancho su clasificación es (16):

Reino	Vegetal
Subreino	Protófitos
Subdivisión	Sehizophyta
Clase	Cyanophiceae
Familia	Oscillatoriaceae
Genero	Spirulina
Especie	<u>Spirulina máxima</u> (9, 16, 19, 24)

El desarrollo de esta especie se lleva a cabo en aguas muy alcalinas, soporta pH de 9 a 11 y con una concentración alta de bióxido de carbono, con condiciones que caracterizan a las lagunas alcalinas, donde el contenido de carbonatos proporciona la

posibilidad de disponer del bióxido de carbono requerido por el alga, otro factor importante es que necesita una gran cantidad de luz solar (16).

Como otros microorganismos la spirulina tiene un crecimiento mas alto que las plantas, pudiéndose obtener 4 kg. por día en un estanque de 5 m². (11, 23).

Químico próximo del alga Spirulina;

Humedad	12.8%
Proteína cruda	65.4%
Extracto etéreo	0.5%
Fibra cruda	1.3%
Cenizas	6.8%
Extracto libre de N.	13.2%
Calcio	3.0%
Fósforo	0.99% (17)

Entre los pigmentos contenidos en la Spirulina se encuentran:

Clorofila; como pigmento verde, los tipos de clorofila contenida se denominan A y B en una proporción de 3:1, la clorofila es una porfirina que contiene magnesio, el contenido de clorofila en la Spirulina es de 7.60 g/kg de materia seca (7, 25).

Fitol; es un diterpeno, derivado de la clorofila procedente de la hidrólisis de la misma, en promedio contiene 800 mg/kg materia seca (14, 25, 26).

Ficobilinas; Son tetrapirroles lineales, en contraste con la clorofila que es un tetrapirrol cíclico, las ficobilinas difieren también en que carecen de magnesio unido,

Las ficobilinas se hallan conjugadas con proteínas específicas y son:

C-ficocianina (azul)

C-ficoeritrina (rojo)

Alcianina (azul) (8, 14, 25, 26)

Carotenos; son hidrocarburos tetraterpénicos, lipídeos simples, su contenido en la Spirulina es de 4 g/kg materia seca (14, 17, 25).

Beta caroteno	26 %	
Beta caroteno-5,6-epóxido	5 %	
Equinona	7%	
Criptoxantina	23%	
Mixoxantofila	24%	
Zeaxantina	9%	(6)

Todos los carotenoides son de origen vegetal, si se les encuentra en los animales es por que directa o indirectamente los han tomado de los vegetales (4, 14, 17).

Características de algunos carotenos de la Spirulina

CAROTENO	PRECUR. VIT.A	COLOR	OTRO ORIGEN
Beta caroteno	Precursor	No pigmenta	Zanahorias
Criptoxantina	Precursor	Amarillo	Maíz amarillo
Equinona	No precursor *	Rojo	Erizo de mar
Zeaxantina	No precursor *	Anaranjado	Alfalfa
Mixoxantofila	No precursor *	Café	Algas

* casi en todos los peces es precursor (5, 19, 26).

Toxicidad de la Spirulina.

Se han realizado muchos estudios para poner de manifiesto la posible toxicidad de esta alga, la mayoría no ha tenido este efecto, sin embargo los datos mas confiables al respecto surgen de los grupos humanos como los aztecas que la consumieron durante generaciones sin presentar intoxicación, incluso en la actualidad, se sabe que hay gente que consume hasta 15 g/día. El único riesgo potencial de la Spirulina es su contenido de ácidos nucleicos, aun así una persona adulta puede llegar a consumir hasta 2 g al día de ácidos nucleicos, como un estricto margen de seguridad. Es importante recordar que la toxicidad del alga cultivada y la calidad del medio de cultivo están en estrecha relación (14).

La Spirulina de cultivo natural contiene varias bacterias en cambio la del cultivo artificial esta menos contaminada y por lo tanto es mas segura como alimento (25).

Según el análisis químico de la Spirulina realizado por los laboratorios de las Naciones Unidas no hay toxicidad.

Química de los carotenos.

Se define al carotenoide como un término genérico utilizado para describir moléculas lipofílicas compuestas de ocho unidades de isopreno pentacarbonico (Tetraterpeno) de ahí su solubilidad en las grasas.

Son lípidos constituidos por largas moléculas polisoprenoides que poseen dobles enlaces conjugados, cada extremo de la molécula contiene un anillo de ciclohexano sustituido insaturado, son de alto peso molecular y contienen un elevado numero de dobles enlaces, este carácter químico determina su intensa coloración, espectros de adsorción y su afinidad por el oxígeno, de ahí que existan dos clases de carotenos, los carotenos isoprenoides que no contiene oxígeno y las xantofilas que son muy

semejantes en su estructura pero contienen oxígeno en sus anillos terminales (14, 26).

Los carotenoides pueden ser clasificados según su función química en hidrocarburos, alcoholes, con varios grupos OH, ácidos con grupos COOH y cetonas.

Clasificación de algunos carotenoides.

	Alfa caroteno.....C40 H56
1-Hidrocarburos	Beta caroteno.....C40 H56
	Gama caroteno.....C40 H56
	Criptoxantina.....C40 H56 O
2-Alcoholes	Luteina.....C40 H56 O
	Zeaxantina.....C40 H56 O
	Bixina.....C25 H30 O4
3-Ácidos	Crocetina.....C20 H24 O4
	Capsantina.....C40 H58 O3
4-Cetonas	Rodoxantina.....C40 H58 O3

(26)

Pigmentantes carotenoides.

Como pigmentantes los carotenoides pertenecen a dos categorías principales como ya se mencionó y son: Los carotenos (hidrocarburos que no contienen oxígeno); el beta caroteno es el ejemplo más importante por su actividad como precursor de la vitamina

A, sin embargo, estos son ineficientes como pigmentantes "en vivo". Las xantofilas (hidrocarburos que contienen oxígeno), son los compuestos que se depositan en los tejidos del cuerpo impartiendo su color (22).

Desde el punto de vista nutritivo, los pigmentos no son necesarios, ni se conoce función fisiológica alguna; a pesar de que las xantofilas pertenecen al grupo de los carotenoides no tienen las propiedades de la vitamina A (3).

La estructura química de los carotenoides es de suma importancia de ella depende la coloración de los mismos así como la pigmentación de diferentes especies. Esto definitivamente se debe a la posición de las dobles ligaduras en la molécula ya que si se encuentran en configuración Trans, la pigmentación será naranja-rojiza, por otra parte si las ligaduras no se encuentran paralela una a otra estarán en configuración Cis y producirán una pigmentación amarillo pálido, por lo tanto los oxicarotenos Cis poseen menos eficiencia pigmentante que los Trans (19).

Los oxicarotenos como fuente de pigmentos.

Ciertos carotenos han sido utilizados como fuentes de pigmentos en algunas especies de flamencos (*Phoenicopterus-ruber*). La inclusión de cantaxantina en la dieta no solo influye en la pigmentación, sino en la reproducción y fertilidad de dichas aves. Además de acumularse en el plumaje, piel de las patas, yema de huevo, sangre e hígado. Algunas aves silvestres han sido experimentalmente alimentadas con cantaxantina con excelentes resultados de pigmentación, la astaxantina y la cantaxantina son oxicarotenos más comúnmente utilizados en acuicultura para la pigmentación tanto de carne de trucha como de salmón obteniéndose con su aplicación un color rosado. Con esta característica la carne tiene mayor demanda en el mercado y es más rentable ya que el precio del salmón está relacionado con la intensidad del color.

Además entre mas pigmentada se encuentre la piel de los machos, esta servirá para atraer a las hembras (21).

Se concluye que los pigmentos intervienen como:

Hormona de fertilización, su presencia favorece el incremento en el crecimiento, grado de maduración y fecundidad de los peces. Además, reduce la mortalidad durante el desarrollo embrionario (21).

Los peces aumentan su resistencia a condiciones ambientales severas como; elevadas temperaturas del agua, elevados niveles de amonio y efectos dañinos de la luz. De igual manera adquieren una función respiratoria bajo concentraciones iimitadas de oxígeno, sin embargo ninguna de estas funciones ha sido documentada científicamente. Generalmente se acepta que los carotenoides actúan como protectores del daño causado a las células por la acción fotodinámica sirviendo como pigmento filtrador. Como ya se menciona los carotenoides son liposolubles. Estudios realizados indican un incremento en el deposito del pigmento, al aumentar el contenido de grasa en la dieta, sin embargo, no se observo ningún cambio al respecto al revisar los posibles efectos de la grasa y vitamina A en la absorción y deposito de los pigmentos carotenoides. La grasa puede favorecer la absorción, pero desfavorecer la estabilidad de los carotenoides ya que como radicales libres puede oxidarlos. La cantaxantina se almacena esencialmente en la membrana sarcoplasmática de la fibra muscular, la cual contiene fosfolípidos que intervienen en la fijación de la misma (21).

Factores que afectan la pigmentación.

Salud del pez. La habilidad de acumular pigmentos no esta relacionada con el peso sino con el estado fisiológico del mismo, la salud es de gran importancia ya que si el pez presenta infecciones internas, su pigmentación disminuye notablemente. Las bacterias ocasionan engrosamiento de la pared intestinal y el pigmento no se absorbe. En el caso de las coccidias, tales como Eimeria sp. estas están relacionadas directamente con la pigmentación dado que en el plasma de los peces, existe una fracción lipoproteica donde se concentra el pigmento, la infección por Eimeria sp altera de alguna manera la estructura de la lipoproteína. Es de suponerse entonces que la absorción de los carotenoides requiera de la presencia de un transportador específico. Este ultimo es también específico de la especie en cuestión, y la lipoproteína es la molécula transportadora. Las Eimerias causan daños estructurales en el tejido del intestino ocasionando perdida de la mucosa, esta puede verse acompañada por un alargamiento en los segmentos del intestino delgado como es el caso de la Eimeria acervulina y la Eimeria máxima o por aumentos de diámetro como es el caso de la Eimeria necatrix, lo que provoca un aumento en la actividad mitótica en las criptas de la mucosa que muestra sus propiedades alteradas (21).

Raza. La raza esta regulada por un par de genes de los cuales el dominante, conocido como "W", impide la fijación de los carotenoides cuando se presenta, mientras que el gen doble "WW" permite la asimilación de los mismos (21).

Composición de la ración. Los ingredientes que se utilizan comúnmente en la elaboración de los alimentos balanceados pueden aumentar o disminuir la

pigmentación, por ejemplo la inclusión de aceite, grasas o sebos en alimentos, tiende a aumentar la pigmentación mediante una mejor absorción de las xantofilas.

Por otro lado, si estas grasas o aceites se encuentran en mal estado (rancias) pueden provocar efectos contrarios ya que las xantofilas también se oxidan. Algunas sales metálicas en exceso como el manganeso, descomponen u oxidan a las xantofilas. La rancidez oxidativa de las grasas no saturadas de la dieta puede causar además de la destrucción de xantofilas, pérdida de las vitaminas A, E, y D. Para prevenir la oxidación de las grasas, xantofilas y vitaminas liposolubles, se utilizan varios tipos de antioxidantes como la etoxiquina (3, 28).

Cuando se añaden a la dieta pequeñas cantidades de aceite mineral, se produce una interferencia en la utilización tanto de la Vitamina A como del caroteno aunque la inhibición de este último es mucho mayor (12).

Los antibióticos que se emplean a nivel nutricional en los alimentos, favorecen una mejor pigmentación de modo indirecto debido a que controlan enfermedades subclínicas y mantienen el tubo intestinal sano por lo que hay una mejor absorción de nutrientes y pigmentos (3). Sin embargo el exceso de sulfas retarda o nulifica totalmente la acción de los pigmentos (17).

La especie, animales entre los que se encuentran los peces y camarones se cree que son incapaces de sintetizar carotenos de novo (5, 6, 10).

Algunas especies utilizadas en acuicultura (peces omnívoros/herbívoros) son capaces de transformar los carotenoides ingeridos tales como Beta caroteno y depositar, los productos finales resultantes, usualmente astaxantina en sus tejidos.

En contraste las especies carnívoras de peces tales como salmónidos y brema marina roja, se cree que son incapaces de la transformación de carotenoides, el carotenoide ingerido es depositado en su estado inalterado dentro de los tejidos del cuerpo (10, 28)

Purificación de carotenos. es necesario procesarlos para lograr una estabilización de los mismos así como uniformidad en el contenido de xantofilas del producto terminado. Por esta razón hay que ofrecerlas concentradas y además saponificadas, con el fin de hacerlos completamente asimilables. Como consecuencia de ser un producto natural tiene la necesidad de una estandarización para que su empleo sea siempre constante en las fórmulas alimenticias. En relación con el proceso digestivo de los carotenoides estos pueden estar combinados en estructuras químicas que impiden toda posibilidad de transformación, cosa muy frecuente que limita notablemente la utilización como pigmentadores, en este caso son simplemente eliminados en las heces, la saponificación es un proceso que consiste en una predigestión de las xantofilas para romper la esterificación con los ácidos grasos como se señala a continuación y la luteína queda en estado libre.

Luteindipalmitato (54% del pigmento)



Hidróxido de sodio
(Saponificación)

Luteína + Dipalmitato (ácido graso)

(3, 5)

Almacenamiento de los pigmentos. La forma y el tiempo de almacenamiento de los pigmentos, influyen en la calidad y propiedad pigmentante. La luz, la humedad, la

temperatura el aire y algunas sales minerales perjudican a las xantofilas. Un buen almacenamiento de los pigmentos será aquel que las proteja de estos factores (3).

Aspectos naturales y biodisponibilidad. Los alimentos de origen vegetal, especialmente las plantas de hojas verdes contienen carotenos en cantidades que varían enormemente. Según la época de la cosecha, el grado de marchitamiento, el método de preservación utilizado (secado, ensilado), disminuye la concentración de carotenos a tal punto que en muchos casos, después de solo tres o cuatro meses, se ven reducidas a menos del 30% del contenido presente en el momento de la cosecha. Este proceso de degradación es acompañado por una transformación estructural de la molécula en compuestos de caroteno, con una eficacia biológica menor. La absorción y conversión dependen de diversos factores, como los fertilizantes (potasio, nitratos), los métodos de preservación y el aporte (29).

Las principales fuentes naturales de pigmentos son: maíz amarillo, alfalfa, cempasúchil y chile, sin embargo, el problema que éstos presentan es su escasez y el alto precio en determinadas épocas del año. También se usan algunos pigmentantes sintéticos pero algunos con poco éxito debido a la pigmentación deficiente que presentan y a su elevado precio. Por lo que es conveniente buscar nuevas fuentes de pigmentación fácilmente asequibles (17). Una alternativa puede ser el alga *Spirulina*, que además de contener gran cantidad de proteínas contiene diversos tipos de pigmentos naturales, por lo que merece atención como pigmentante. Tiene la combinación de pigmentos amarillos y rojos, no es sintética y su extracción resulta de bajo costo o en su caso también se puede cultivar, por lo que se puede generar nuevas fuentes de trabajo y fomentar la acuicultura en el cultivo de algas. Existen pocos estudios de uso de *Spirulina* en Tilapia, se realizó una prueba con *Oreochromis niloticus* donde tuvo una

influencia en la pigmentación (4) y dado que una especie pura no se produce igual de simple que una híbrida, entonces, por lo anterior se estudio su efectividad en la pigmentación de carne de tilapia híbrida usando el extracto como tal, con el objetivo de darle mejor presentación y mejorar su venta por tanto, se justifico el trabajo de investigación con los siguientes;

OBJETIVOS:

Determinar si la Spirulina pigmenta la carne de tilapia.

Determinar la dosificación mínima de Spirulina con lo cual la carne de tilapia adquiere pigmentación así como el tiempo necesario para dicha pigmentación.

HIPOTESIS:

La adición de Spirulina en la dieta de tilapia híbrida pigmenta su carne.

La Spirulina es capaz de pigmentar el músculo de tilapia en forma directamente proporcional a la cantidad suministrada en la dieta y el tiempo de tratamiento.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 70 ejemplares de tilapia híbrida (Oreochromis sp) cuya procedencia fue la Granja Acuícola El Rodeo en el estado de Morelos, el bioensayo se desarrollo en el Departamento de Producción Acuícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

Las 70 tilapias se distribuyeron en 7 acuarios de 40 litros. (10 tilapias al azar por acuario). Se desparasitaron por tres días con de Prazicuantel a una dosis de 10 mg/kg de peso vivo, agregado en el alimento. Se efectuó un análisis coproparasitoscopico postratamiento para evaluar el resultado. La dieta fue diseñada con base en las necesidades nutricionales de tilapia juvenil y estas son:

- 35 % Proteína cruda.
- 3.5% Extracto etéreo.
- 3.8% Fibra cruda. (2)

Las dietas conformadas son isoproteicas como se ve en el cuadro 6. La dieta estaba conformada de los siguientes ingredientes:

- Harina de pescado.
- Harina de carne.
- Sorgo.
- Soya.
- Semilla de girasol.
- Vitaminas.
- Minerales.
- Spirulina deshidratada.¹
- Grenetina.

¹ Elaborado por Spirulina Mexicana S. A. de C.V.

La dieta fue balanceada para cubrir las necesidades mencionadas y variando el porcentaje de Spirulina como se observa en el cuadro 6, posteriormente se realizó la molienda para pulverizar lo mas posible los ingredientes, estos se mezclaron por 15 minutos a fin de homogeneizar la mezcla. Como aglutinante para formar la hojuela se usó grenetina esta no se incluye en el balanceo dado que su valor proteico es nulo, ademas de que carece de aminoácidos esenciales indispensables (1), en una dosis de 6 g/kg de alimento, se mezcló con agua caliente formando una masa que se aplanó entre dos hojas de nylon y se deja secar. Esta dieta se suministro al 3 % de peso promedio de las tilapias, la mitad se proporcionaba a las 9:00 hrs. y la otra mitad a las 16:00 hrs (18). El único manejo al que se expusieron fue al cambio de agua cada semana durante todo el experimento.

Determinación del efecto pigmentante de la Spirulina.

Tanto al inicio como al termino del experimento se determino la pigmentación de la carne de tilapia por medio de la carta de colores para salmónidos,² La variable de respuesta, es la diferencia de pigmentación observada durante la adición de Spirulina. Para la determinación de la efectividad pigmentante de la Spirulina se utilizo como base una dieta estandar o de control comparada con las otras dietas ordenado de la siguiente forma:

Lote 1 : Control (0 % de Spirulina)

Lote 2 : 2.5 % Spirulina.

Lote 3 : 5 % Spirulina.

Lote 4 : 7.5 % Spirulina.

Lote 5 : 10 % Spirulina.

Lote 6 : 12.5 % Spirulina.

Lote 7 : 15 % Spirulina.

² De los laboratorios Roche de México.

Cada cuatro semanas se sacrificaron 2 peces de cada lote (Pez A, Pez B), y se descubrían los músculos intercostales sobre la línea lateral, los datos de coloración se compararon con base en la carta de colores, con la ayuda de tres observadores se determinaba cada rango específico de pigmentación, al cabo de 20 semanas el análisis estadístico se basó en un diseño aleatorio con un factor (Spirulina como pigmento) a siete niveles (0%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, 15%) En todo el caso se utilizaron pruebas no paramétricas (Kruskal Wallis y U de Mann Whitney) (7, 15) .

RESULTADOS

Efectividad pigmentante de la Spirulina; Se observó que la Spirulina produjo pigmentación cuando se comparó con el lote control ; Los resultados de la coloración de los músculos se observa en el cuadro 1.

Estos resultados fueron sometidos al análisis de varianza no paramétrico Kruskal Wallis y sus resultados se muestran en el cuadro 2 y 3.

En ambos análisis, si hay diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre el color del músculo de los diferentes lotes.

Dosificación que produce mejor pigmentación; Para determinar el lote específico donde hay una marcada pigmentación se realizó el análisis de U Mann Whitney, los resultados obtenidos se muestran en los cuadros 4 y 5 en ambos casos hay diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) a partir del lote número cuatro y cinco, por lo tanto las raciones al 7.5% y 10 % de Spirulina en un periodo de 20 semanas son capaces de pigmentar la carne de tilapia híbrida.

DISCUSION

Con relación a los resultados, los datos generados demuestran que el tratamiento cero también pigmenta sin la adición de Spirulina, esto es debido a que los otros componentes de la dieta tienen carotenos propios. Por lo que cuantificando el aporte de estos pigmentos, de la dieta cero, podría reducirse, en cierta forma la dosis de Spirulina.

Efectividad pigmentante de la Spirulina; Los resultados obtenidos muestran que la adición de Spirulina en el alimento es capaz de pigmentar el músculo de la tilapia híbrida (*Oreochromis* sp) ya que en todos los lotes pigmentaron con respecto al lote control, los resultados del cuadro I revelan que la Spirulina tiene efecto pigmentante. El método usado fue comparación visual entre el color del músculo y los diversos colores de una carta de colores, los cuales miden el color por comparación visual directa, siendo esto muy subjetivo pues depende de la cantidad de luz y el estado de salud del observador así como su edad (27).

Dosificación que produce pigmentación; Por los resultados obtenidos se recomienda para la tilapia híbrida (*Oreochromis* sp) una dosificación de 7.5% al 10 %, con un tiempo de 20 semanas de Spirulina dado que esta muestra la mayor eficiencia pigmentante. El color tiene tres dimensiones; color, brillantez, y saturación; El color es el matiz mismo o cromo, los matices primarios son; amarillo, rojo y azul, la segunda dimensión es el brillo que va de la luz a la oscuridad y la tercera es la saturación que es la pureza de un color respecto al gris (27).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Para el observador, la impresión del color tiene dos aspectos la saturación y el matiz; La saturación es una escala del contenido de carotenoides pigmentantes en el músculo. El matiz caracteriza la gama de colores que va del amarillo pálido al amarillo naranja oscuro. El ojo humano no puede establecer una diferencia neta entre la saturación y el matiz. Para el humano el matiz y la saturación se compensan y asocian involuntariamente un matiz oscuro con una saturación pronunciada y una saturación mas fuerte con un matiz mas oscura. Lo anterior indica la posibilidad de obtener de dos maneras la pigmentación deseada por el consumidor.

A) Utilizando un solo carotenoide o una mezcla de xantofilas amarillas cuyo matiz coincida con las exigencias del consumidor.

B) Combinando adecuadamente los carotenoides amarillos y rojos, con lo cual se podrá reducir al mismo tiempo la concentración de xantofilas amarillas.

Mediante el primer procedimiento, el matiz y la saturación se obtienen por la regulación de la cantidad de xantofilas ingeridas. Cuando mayor sea la cantidad ingerida mayor será la saturación y para el ojo humano la impresión será de un matiz mas oscuro. Esta impresión disminuirá a medida que la cantidad de xantofilas ingeridas aumenta y acabara por desaparecer cuando la ingestión sea muy elevada.

Con el segundo procedimiento, la combinación de carotenoides amarillos y rojos predominara la influencia del matiz. La intensificación de los matices mas oscuros afectara sustituyendo parcialmente las xantofilas amarillas por rojas producirá al observador humano la impresión de saturación mayor, sin que haya tenido lugar una intensificación real de la saturación, debido a un aumento de los carotenoides (3).

Concordancia con otro trabajo; Con respecto a los resultados obtenidos en el Instituto Nacional de Acuicultura (Tailandia) Boonyaratpalin y Unprasert indicaron que la Spirulina tuvo una apreciable influencia en la pigmentación, su conclusión es que la Spirulina puede utilizarse para abastecer como una fuente de pigmentación (4). Con base en esto los resultados demostraron que si hay efecto pigmentante en tilapia híbrida (6, 17).

Limitaciones del experimento; Los resultados obtenidos hubiesen sido mas objetivos si se contara con un calorímetro de reflectancia el cual da resultados mas precisos en donde es probable que el alga que se uso, dado su tratamiento (concentración, filtración, lavado, rociado y deshidratado) bajo su concentración de carotenoides (6).

Cuadro 1
Grados de coloración del musculo en los peces sacrificados,
mediante la tabla colorimétrica.

PECES TIEMPO	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		LOTE 4		LOTE 5		LOTE 6		LOTE 7	
	A 0 %	B	A 2.5 %	B	A 5 %	B	A 7.5 %	B	A 10 %	B	A 12.5 %	B	A 15 %	B
4 SEM.	1	1	1	1	3	2	2	2	3	3	3	3	3	3
8 SEM.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	4
12 SEM.	1	2	3	2	1	2	1	4	4	2	3	4	3	3
16 SEM.	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	5	5
20 SEM.	1	2	2	2	2	2	3	3	4	4	4	4	5	4

Los numeros 1, 2, 3, 4, 5 son los diferentes grados de pigmentación que se presentan en la tabla colorimetrica.

Cuadro 2

Resultados del análisis de Kruskal-Wallis efectuado
en el pez A de cada lote.

LOTES	%	MEDIANA	VARIANZA
LOTE 1	0 %	1.0	.24
LOTE 2	2.5 %	2.0	.56
LOTE 3	5 %	2.0	.56
LOTE 4	7.5 %	2.0	.56
LOTE 5	10 %	4.0	.64
LOTE 6	12.5 %	3.0	.24
LOTE 7	15 %	3.0	.96

Kruskal-Wallis H=19.229576

χ^2 cuadrada = 19.229576

Dos colas p=.0037930

Grados de libertad = 6

Cuadro 3
Resultados del análisis de Kruskal-Wallis efectuado
en el pez B de cada lote.

LOTES	%	MEDIANA	VARIANZA
LOTE 1	0%	2.0	.18
LOTE 2	2.5 %	2.0	.40
LOTE 3	5 %	2.0	.16
LOTE 4	7.5 %	3.0	.56
LOTE 5	10 %	3.0	.58
LOTE 6	12.5 %	4.0	.24
LOTE 7	15 %	4.0	.58

Kruskal-Wallis H = 20.928361

XI cuadrada = 20.928361

Dos colas p = .0018898

Grados de libertad = 6

Cuadro 4

Análisis de U de Mann Whitney para el pez A de cada lote.						
	2.5 %	5 %	7.5 %	10 %	12.5 %	15 %
&	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	LOTE 7
L-1 0%	P=0,07	P=0,07	P=0,07	P=0,007*	P=0,007*	P=0,003*
L-2 2.5%		P=0,54	P=0,54	P=0,04*	P=0,02*	P=0,02*
L-3 5%			P=0,54	P=0,04*	P=0,02*	P=0,02*
L-4 7.5%				P=0,04*	P=0,02*	P=0,02*
L-5 10%					P=0,45	P=0,37
L-6 12.5%						P=0,37

*Hay diferencia estadísticamente significativa a partir de la relación lote 5 con los lotes 1, 2, 3 y 4.
Alfa = .05

Cuadro 5

Análisis de U de Mann Whitney para el pez B de cada lote.

	2.5 %	5 %	7.5 %	10 %	12.5 %	15 %
&	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4	LOTE 5	LOTE 6	LOTE 7
L-1 0%	P=0,34	P=0,11	P=0,04*	P=0,01*	P=0,003*	P=0,003*
L-2 2.5%		P=0,34	P=0,11	P=0,02*	P=0,007*	P=0,007*
L-3 5%			P=0,154	P=0,04*	P=0,007*	P=0,007*
L-4 7.5%				P=0,25	P=0,07*	P=0,07*
L-5 10%					P=0,25	P=0,18
L-6 12.5%						P=0,40

*Hay diferencia estadística significativa a partir de la relación lote4 con lote 1.
Alfa=.05

Cuadro 6

Composición las diferentes dietas

	Lote 1 %	Lote 2 %	Lote 3 %	Lote 4 %	Lote 5 %	Lote 6 %	Lote 7 %
H. Pes.	10	8.26	8.26	8.26	8.26	4.28	4.28
H. Carne	15	13.75	9.82	6.17	3.56	5.18	1.46
Sorgo	33	33	34.43	35.74	38.74	36.57	37.8
Soya	30	30	30	30	29	29	29
Girasol	8	8.49	8.49	8.33	8.44	8.49	8.48
Spirulina	0	2.5	5	7.5	10	12.5	15
Vitaminas	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Minerales	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Aglut.	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Total	100	100	100	100	100	100	100
P.C	34.83	35	34.97	35.03	35.16	35.10	35.13
E.E.	3.85	3.86	3.89	3.53	3.43	3.64	3.46
F.,C.	3.66	3.89	3.87	3.83	3.76	3.79	3.76

LITERATURA CITADA

- 1- Adrian J. y Frangne L.: La ciencia de los alimentos de la A a la Z. Acribia S.A. España 1990.
- 2- Aguilera, H. P.: La tilapia y su cultivo. Fondepesca (Secretaría de pesca). México 1988.
- 3- Avila, G. E., Shimada, S. A. y Llamas, L. G.: Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. . Consultores en producción animal. México 1990.
- 4- Boonyaratpalin M. and Unprasrt N. : Effect of pigments from differents sources on changes and growth of red Oreochromis niloticus. Aquaculture, 79: 375-380 (1989.)
- 5- Buenrostro P. J.: Efecto de la utilización de pigmentos en la alimentación de las aves. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México 1982.
- 6- Chouber G.: Tentative utilization of spirulina algae as a source of carotenoid pigments for rainbow trout. Aquaculture, 18: 135-143 (1979.)
- 7- Chris L.: Fundamentos de estadística. Limusa. S.A. México 1978.

- 8- Conn E. y Stumpf P.: Bioquímica fundamental. 3ra. Limusa. S.A. México 1978
- 9- Enciclopedia de las ciencias naturales: Vol. 3 (Botánica), Ediciones Nauta, España 1989
- 10- Food and Agriculture Organization (AQUILA) : Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados. (Manual de Capacitación) E.A.Q. Brasilia, 1989.
- 11- García, B. J.: Tecnología de la explotación piscícola Mundi-Prensa, Madrid 1985.
- 12- Harper, H. A.: Química Fisiológica. Manual Moderno S.A. México 1976.
- 13- Henson, R.: Spirulina algae improves japanese fish feeds. Acuaculture. 88: 120-121 (1990.)
- 14- Lehninger, A.: Bioquímica 2ed. Omega, Barcelona, 1985.
- 15- Levin, R. I.: Estadística para administradores Prentice-Hall Hispanoamericana S.A. México 1988.

- 16- Mondragon, B.M.: Cultivo y uso de alga Tecuittlatl, Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México 1984.
- 17- Montalvo, V.I.: Evaluación química y biológica de los Pigmentos de la Spirulina, Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México México 1974.
- 18- Morales Díaz Armando.: La tilapia en México. AGT EDITOR S.A. México 1991.
- 19- Nason, A.: Biología. Limusa, México 1979.
- 20- Necochea, R. R. : Manual de aditivos y suplementos para alimentación animal. Manual agropecuario ,. México 1987
- 21- Romero, L. A.: Efecto pigmentante de la Cantaxantina y la Capsantina en la piel del pez Japonés. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad Simón Bolívar, México 1990.
- 22- Romo, M. H.: Productos pigmentantes usados en la industria de alimentos balanceados. Simposio sobre tecnología nutricional en la fabricación de alimentos balanceados. Parte I ingredientes, México 1984-1985. AMENA, México 1884

- 23- Santillan, C.: Mass production of Spirulina. Experientia, 38:40-43 (1982).
- 24- Scagel, R. F. y Bandoni R.J.: El Reino Vegetal. OMEGA Barcelona 1980.
- 25- Sosa Texcoco, S.A. (Dirección Comercial): Alga Spirulina, Un producto Natural. Sosa Texcoco, México 1978.
- 26- Spinetti, B. M.:Manual de Bioquímica, Científico Médico. Barcelona 1964.
- 27 -Suárez, P. A., Salmeron, S. F. y Beceril, G. M.: Evaluación de pigmentos por medio de reflectancia, en dos líneas de pollo de engorda comercial. XII Convención anual ANECA Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero 1987 59-63 ANECA México 1987.
- 28- Subcommittee on Warmwater Fish Nutrition: Nutrient Requirements of warmwater fish and shell fishes. National Academy Press. Washinton D.C. 1983.
- 29- Sühke, E.: Las vitaminas en nutrición animal., AWT Roche, Bonn Alemania 1993.

INDICE

Resumen.	Pag. 1
Introducción.	2
Objetivos	15
Hipotesis	15
Material y Metodos	15
Resultados	18
Discución	19
Apendice	
Tabla 1 Grados de coloración en los peces	A
Tabla 2 Resultados del análisis Kruscal Wallis	B
Tabla 3 Resultados del análisis Kruscal-Wallis	C
Tabla 4 Análisis de U de Man Whitney	D
Tabla 5 Análisis de U de Man Whitney	E
Tabla 6 Composición de las diferentes dietas	F
Literatura citada	22