



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Ingredientes alternativos (harinas de krill y *Spirulina*) en alimentos para *Macrobrachium acanthurus* (Wigmann, 1836)

Que para obtener el título de

Biólogo

PRESENTA

Josué Sebastián Peña Castillo

Asesor

Dr. Luis Héctor Hernández Hernández



Los Reyes Iztacala, Tlanepantla, Estado de México 2023



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 esta 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.

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ CON EL APOYO DEL PROYECTO PAPIIT
IN203121 DE LA DGAPA, UNAM

Agradecimientos.

A mi familia, mamá, papá gracias por darme su apoyo de tantas maneras sin ustedes no hubiera llegado ni a la mitad de donde estoy, Santiago, Pablo gracias por el apoyo que me dieron desde escucharme hasta ayudarme. Y del mismo modo a toda mi familia que estuvo presente durante este proceso que inicie en 2018 los amo mucho.

Para mis queridos amigos de la carrera, Oscar, Ale, Lalo, Víctor, Judith y Hendrick que me dieron apoyo y risas durante nuestros estudios sin ustedes este viaje no hubiese sido igual gracias por su ayuda, paciencia y amistad verdadera les deseo el éxito en sus distintos campos.

A Toño y a Ramon mis mejores amigos, gracias por seguir a mi lado desde hace once años, por escuchar mis platicas de temas que apenas si entienden y apenas si les interesan, su amistad ha sido y sigue siendo un impulso que me ayuda a seguir adelante, los quiero yyyyyyyyyy.

A mis compañeros del acuario Mau, Rick, Manuel, Diana, Ponis con quienes conté para llevar a cabo mi trabajo gracias por darme ánimo y guía, gracias a ustedes este trabajo salió a flote.

Para Fer (mi inspiración) que me diste un gran confort y estímulo durante este proceso, gracias por tu cariño y tu paciencia, sin ti este trabajo no sería el mismo, agradezco toda la ayuda que me has dado tanto académica como sentimentalmente.

A mi asesor el Dr. Héctor Hernández, por todo el apoyo que me ha dado desde que ingrese al acuario y su paciencia, gracias por guiarme y adentrarme al mundo de la acuicultura. También al profesor Mario quien me respondía dudas y siempre estaba dispuesto a enseñarme.

A mis sinodales que me dieron sus correcciones de forma objetiva, con la intención de mejorar mi trabajo y ayudarme a crecer.

Asimismo, agradezco a la UNAM y a la FES Iztacala que desde el CCH me dio un sinfín de experiencias y oportunidades, gracias por ayudarme a cumplir mi sueño de convertirme en biólogo

Por último, a Dios que ha sido bueno conmigo a pesar de todo, mi gratitud nunca será suficiente para ti gracias por las palabras que me diste:

Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas.

Josué 1:9

Contenido

1.	Introducción	1
1.1	Ubicación taxonómica	4
1.2	Distribución y ecología	4
1.3	Morfología.....	6
1.4	Morfofisiología digestiva en crustáceos	7
1.5	Biología y ciclo de vida.....	9
1.6	Nutrición.....	12
1.7	Proteínas	12
1.8	Lípidos.	13
1.9	Carbohidratos.....	14
2.	Antecedentes.	15
2.1	<i>Spirulina</i>	15
2.2	Krill	16
3.	Justificación	18
4.	Hipótesis.....	19
5.	Objetivos.	19
5.1	Objetivo general:	19
5.2	Objetivos particulares	19
6.	Materiales y métodos.....	20
6.1	Formulación de dietas	20
6.2	Análisis químicos proximales.....	20
6.3	Obtención de organismos	23
6.4	Pruebas de alimentación	23
6.5	Mantenimiento	23
6.6	Biometrías	23
6.7	Parámetros de crecimiento:	24
6.8	Análisis estadístico	24
7.	Resultados.....	26
7.1	parámetros físicos y químicos	26
7.2	Parámetros de crecimiento	26
7.3	Composición química corporal	27
8.	Discusión	29

9.	Conclusiones	34
10.	Recomendaciones para la investigación futura	35
11.	Literatura citada	36
	Anexos.....	49
	Anexo 1 Contenido de humedad	49
	Anexo 2 Contenido de cenizas	52
	Anexo 3 Proteína cruda.....	55
	Anexo 4 Lípidos totales	63

Resumen

El langostino prieto *Macrobrachium acanthurus* es un organismo importante desde el punto de vista económico para comunidades ribereñas en los estados de Veracruz y Tabasco. Su cultivo se ha propuesto para evitar su continua desaparición de los sistemas acuáticos naturales debido a la sobrepesca y contaminación. Para contribuir al desarrollo de alimentos balanceados para esta especie, el presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de la sustitución parcial de la harina de pescado con harina de krill y de *Spirulina* en alimentos de postlarvas de *M. acanthurus*. Se realizó una prueba en la que grupos por duplicado de 5 postlarvas con peso inicial de $3,683 \pm 391$ mg se alimentaron con las dietas control (100% harina de pescado), krill (inclusión con harina de krill de 78%) y *Spirulina* (inclusión con polvo de *Spirulina* de 75%) durante 60 días. Al finalizar, se determinó el crecimiento y se obtuvo el contenido de proteína y lípidos en músculo. No se observaron diferencias significativas en el crecimiento de los tratamientos las dietas en cuanto al crecimiento de los organismos y aunque no se encontraron diferencias entre los tratamientos respecto al contenido de proteína y lípidos en el músculo, se observó un aumento en los lípidos de los organismos alimentados con la *Spirulina*. Los datos obtenidos muestran que tanto la harina de krill, como el polvo de *Spirulina* pueden usarse en sustitución de la harina de pescado en al menos del 70% en el alimento para postlarvas de *M. acanthua*

1. Introducción

A nivel internacional México se posiciona en el lugar 24 de productores acuícolas, registrando un volumen de producción anual promedio de 16 ± 0.21 MdT, tomando en cuenta actividades acuícolas y pesqueras de más de 600 especies en los litorales y aguas continentales las cuales han contribuido en promedio un 9.3% del volumen de producción total (peso vivo) entre 2005 y 2018, considerando que de 2015 a 2018 la acuicultura creció a una tasa de 6% (CONAPESCA 2018a; Vázquez *et al.*, 2022) Existen distintas especies nativas con valor comercial las cuales tienen la posibilidad de ser cultivadas lo que representa una oportunidad laboral en México (FAO, 2022) como el caso de la especie *Macrobrachium acanthurus*.

El género *Macrobrachium* es de gran interés biológico debido al número de especies que lo conforman, su distribución geográfica, diversificación y además por su gran importancia económica en muchos países (Vega-Villasante *et al.*, 2014). Este género está conformado por al menos 238 especies que se distribuyen en la franja tropical y subtropical de todo el mundo (Bauer, 2011).

Las especies pertenecientes al género *Macrobrachium* son de importancia económica pues suelen alcanzar tamaños relativamente grandes, haciéndolas proclives a mayores tasas de consumo en el forrajeo (García Guerrero *et al.*, 2013) La especie *M. acanthurus* es de importancia económica en comunidades de los Estados de Veracruz y Tabasco, y durante los meses de mayo a agosto suele

ser objeto de pesca (Villafuerte *et al.*, 2016). En México, a pesar de la abundancia de este género en zonas continentales del Golfo de México (Cruz-Sánchez *et al.*, 2018), las características morfológicas, reproductivas y de comportamiento de las especies de *Macrobrachium* se han estudiado sólo superficialmente (Álvarez *et al.*, 2001).

La producción acuícola requiere de grandes cantidades de harina y aceite de pescado que son fuente de ingredientes como proteínas y ácidos grasos vitales para muchas especies de peces y crustáceos cultivados pero esto puede traer desequilibrio a las redes tróficas marinas (Troell *et al.*, 2013), Otra problemática creciente se encuentra en la producción de harina de pescado pues su producción llegó a su máximo en 1994 con 30 millones de toneladas (en peso vivo), desde entonces siguen una tendencia que fluctúa pero es descendente de forma general. Actualmente hay una demanda en aumento de harina y aceite de pescado particularmente para la industria de la acuicultura junto con un aumento de precios (FAO, 2022).

La variable producción de harina y aceite de pescado y su consiguiente fluctuación de precios, ha causado la búsqueda de fuentes alternativas de nutrientes (FAO, 2018.). Lo que resulta en el uso de ingredientes más asequibles sin importar su origen (animal vegetal o unicelular) como las harinas de procesamiento residuales obtenidas tanto de la pesca como de la acuicultura (atún, tilapia, sardinas, salmón, pangasio, etc.) y harinas concentradas de la agricultura (soja, canola, maíz, arroz, chícharo, etc.) Los cuales pueden funcionar eficazmente siempre y cuando su contenido por techo sea lo suficientemente elevado para sustituir la harina de

pescado y llevando a cabo la suplementación de vitaminas y minerales. (Leonardi *et al.*, 2021; Rincón *et al.*, 2013).

Al querer incluir nuevas fuentes de alimento se ha planteado utilizar *Spirulina* (*S. máxima*), dado que tiene buenos valores nutricionales y una producción fácil, por lo cual podría convertirse en una buena herramienta apta para mejorar la producción de forma sostenible y rentable. Esta microalga verde-azul pertenece al grupo de la cianobacterias, fue descubierta en aguas cálidas originarias de lagos volcánicos (Díaz y León, 2014) La *Spirulina* es una fuente rica en proteína con un perfil alto de aminoácidos bastante aceptable, es contenedora de vitaminas importantes: A1, B1, B2, B6, B12, y tienen una buena cantidad de vitamina C y E, de ese modo se encuentra catalogada por la FAO (Ahsan, 2008) como un alimento del futuro por sus funciones purificadoras, restablecedora y fortalecedora (Strohmeyer, 2011).

Una fuente alternativa de nutrientes que se ha propuesto para la producción acuícola, son poblaciones de zooplancton como el krill perteneciente a la familia *Euphausiidae* (FAO, 2018). La harina de krill es un ingrediente crudo único y sostenible, con un alto contenido de proteínas, favorables, al igual que un buen contenido lipídico. También es contenedora de compuestos solubles de bajo peso molecular que son nucleótidos y aminoácidos y niveles altos de N-óxido de trietilamina, los que causan un efecto atrayente eficaz. Esta tiene un contenido promedio de 60% de proteína (en base seca) (AquaFeed, 2015).

1.1 Ubicación taxonómica

Esta especie pertenece a un grupo de crustáceos de los más diversos dentro del orden Decápoda, los cuales se encuentran distribuidos en todo el planeta (Vega-Villasante *et al.*, 2014) Podemos observar en donde se ubica de forma taxonómica según Holthuis y Ng (2010)

Tabla 1 Ubicación taxonómica de *Macrobrachium acanthurus*.

Ubicación Taxonómica
Filo Arthropoda
Clase Malacostraca
Orden Decápoda
Infra orden Caridea
Superfamilia Pealeamonidae
Familia Pealeamonidae
Género <i>Macrobrachium</i>
Especie <i>acanthurus</i>

1.2 Distribución y ecología

Los organismos pertenecientes a este género se ubican en la franja tropical y subtropical de todo el mundo, encontrándose desde el nivel del mar hasta alturas de 800 a 1500 m.s.n.m. En cuanto a la especie *M. acanthurus* se distribuye desde

Carolina del Norte en los Estados Unidos de América, hasta el Río Grande del sur de Brasil. (García-Guerrero *et al.*, 2013). En México se localizan en sistemas lenticos de agua dulce, en los estados de Campeche, Tabasco, Veracruz y Tamaulipas (Loran, 2013: García-Guerrero *et al.*, 2013).

Los organismos del género *Macrobrachium* tienen una alta capacidad adaptativa a diferentes ambientes, tienen la capacidad de habitar en ríos, arroyos, estuarios, pantanos, así como en lagunas costeras (Valencia y Campos, 2007). Con temperaturas mínimas anuales de 16°C y como máximas 32°C (Vega-Villasante *et al.*, 2014). Son de hábitos bentónicos a excepción de sus etapas larvarias cuando se ubican en la zona planctónica, pasando esa etapa suelen habitar en fondos arenoso, limosos, bajo rocas y raíces sumergidas. (Vega-Villasante *et al.*, 2014).

1.3 Morfología

La morfología de *M. acanthurus* es descrita por distintos autores, basados en trabajos de Holthuis 1952), Granados Berber (1983), Hernández-Valencia (2010), y Loran (2013) lo que se expondrá en el siguiente párrafo y en la figura 1.

Tienen cabeza con rostrum bien desarrollado, tórax los que se unen que se unen formado un cefalotórax que contiene el rostrum, mandíbulas, que poseen de 8 a 12 dientes de los cuales, de 1 a 3 se encuentran tras las orbitas oculares. El margen terminal del telson termina en un punto agudo flanqueado por dos pares de espínulas, y un par interno que sobrepasa el punto medio y un par extremo. El segundo par de pereiópodos (rasgo característico) es más largo y robusto en los machos proporcionando un dimorfismo sexual, junto con la diferencia de longitudes que va en las hembras de 138 mm y en los machos 108mm.

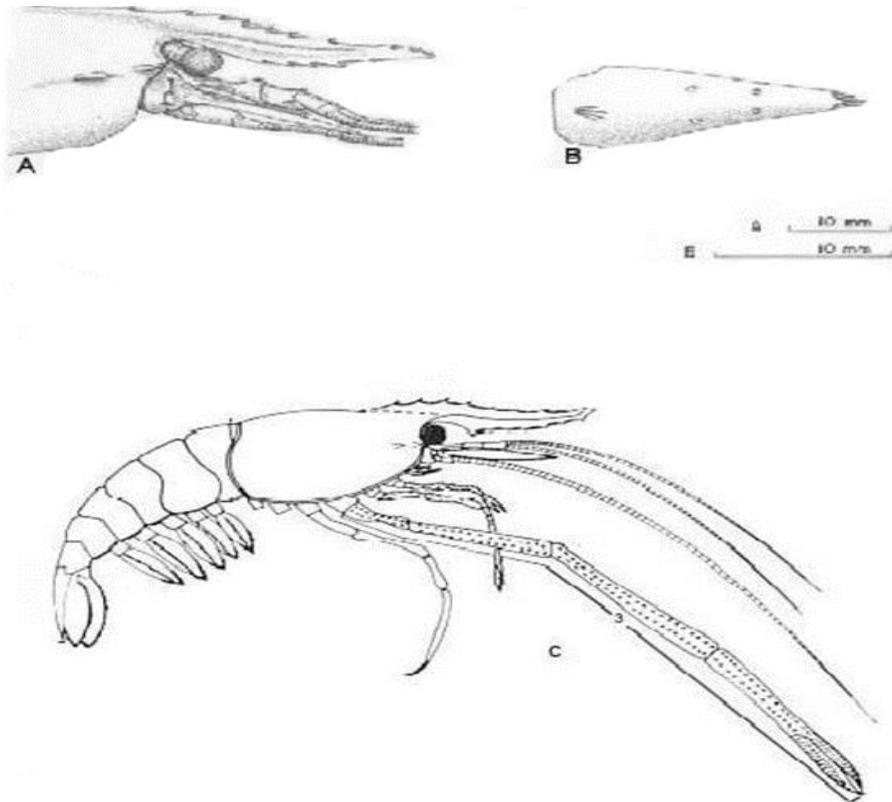


Figura 1 Esquema lateral de *M. acanthurus*. (A) Vista lateral de rostrum. (B) Vista Dorsal del Telson (C) Ilustración de cuerpo completo vista lateral. Modificado de Granados Berber (1983), Valencia y Campos (2007)

1.4 Morfofisiología digestiva en crustáceos

Al formular dietas para producción en cualquier organismos se requiere comprender la naturaleza de los procesos y las limitaciones digestivas, para de esta manera, poder satisfacer los requerimientos nutricionales, esto nos lleva a observar las características tanto anatómicas como fisiológicas del sistema digestivo de los crustáceos decápodos (NRC, 2011). Estos organismos poseen anténulas como apéndices quimiorreceptores con un papel fundamental en la búsqueda de alimento, en cuanto a la captura de alimento los maxilópodos son vitales.

- Boca

Posee apéndices posicionados alrededor de la boca y distintos apéndices masticadores: mandíbula maxílulas y maxilas, de este mismo modo se presenta el palpo o labrum que tienen la función de válvula (Guillame *et al.*, 2003). Que empujan el alimento al interior de la cavidad bucal.

- Esófago

Es recto, con capacidad contráctil y enlaza la boca con el estómago. En algunas especies se presentan pliegues de quitina, los cuales se cree que tienen la función de impedir la regurgitación de alimento (Felgenhauer, 1992).

- Estómago

Se divide en dos cavidades conocidas como cámara cardiaca y pilórica que se encuentran separadas por un encogimiento en el mismo. La cavidad cardiaca es contenedora de osículos calcáreos que son de utilidad en la masticación del alimento, hay partículas demasiado pequeñas para esta cavidad por lo cual llegan a la cavidad pilórica la cual se contrae de forma constante y coordinada lo que hace posible la filtración y permite el paso del alimento al intestino en donde serán excretados (Ceccaldi, 1997; Bayer *et al.*, 1979).

- Intestino medio.

Es una zona que inicia en el píloro hasta el recto y en donde se realiza la absorción y degradación química gracias al labor de enzimas digestivas como son las proteasas, lipasas amilasa y carbohidasas (Espinosa-Chaurand, 2013).

- Hepatopáncreas

El hepatopáncreas también conocido como glándula digestiva es parte de distintos procesos metabólicos como síntesis de enzimas digestivas, absorción de nutrientes, metabolismo de lípidos y carbohidratos, también es parte importante del almacén de reservas minerales, de este mismo modo participa en la traslocación de nutrientes y energía en los procesos de ecdisis y reproducción en el caso de las hembras (Vogt, 1993). Es una glándula bilobulada los cuales se extienden en ramas de dos tipos primarias y secundaria, esta glándula representa entre el 2 y 6% del peso corporal las células epiteliales de los túbulos son especializados en la absorción de nutrientes, endocitosis y digestión intracelular, almacén de lípidos, calcio y glucógeno, así también excreción de metabolitos de nitrógeno (Rószler, 2014) es el equivalente al hígado y páncreas en vertebrados.

- Intestino y ano

Está ubicado en la parte baja del abdomen de forma dorsoventral desde el estómago terminando en el ano, con la finalidad de expulsar heces (Guillaume *et al.*, 2003) Tienen un lumen el cual tiene células que secretan moco en las heces para facilitar su paso por el intestino y una membrana celular que separa el material ingerido del epitelio intestinal, el ano tiene un esfínter muscular (Martin *et al.*, 2006)

1.5 Biología y ciclo de vida.

Los organismos adultos pertenecientes a la especie *M. acanthurus* se encuentran en agua dulce durante la mayor parte de su vida, pero necesitan de aguas salobres para completar su ciclo dulce debido a que en estadios larvarios son anfídromos (Freire *et al.*, 2017). Constan de un desarrollo indirecto, lo que significa

que las hembras producen numerosos embriones que nacen en etapa larvaria temprana las cuales requieren condiciones estuarinas para su desarrollo (Bauer y Delahoussaye, 2008) El desarrollo larvario está compuesto por 10 estadios que se distinguen por la edad en días, tamaño, numero de mudas así como en distintos cambios morfológicos (Choudhury, 1971; Quadros *et al.*, 2004); los adultos habitan en los fondos de los cuerpos de agua en zonas arenosas o limosas cerca de manglares, cuevas, bajo piedras y raíces para refugiarse y alimentarse (Freire *et al.*, 2017).

Una problemática creciente en las comunidades consumidoras de *M. acanthurus* durante últimos años, es el decaimiento de sus poblaciones debido a distintos factores como la sobrepesca, la contaminación del agua y la destrucción de sus ecosistemas naturales (Kutty, 2010). Una alternativa para esta problemática ha sido el cultivo de *M. acanthurus* (Yamasaki-Granados *et al.*, 2012). Pese a ser una especie de interés la información sobre las condiciones de cultivo es escasa (García-Guerrero *et al.*, 2013).

En general, para el cultivo exitoso de langostino, se debe considerar la alimentación ya que el costo de producción de alimento representa entre un 40%-60% del costo total (Espinosa *et al.*, 2012). Durante mucho tiempo la harina de pescado ha sido el ingrediente más utilizado para la alimentación de organismos acuáticos, pero desde los años setenta la industria acuícola ha aumentado su producción de forma constante y considerable a medida que se han enfocado en el uso de ingredientes de origen vegetal para dietas. Sin embargo, para poder

agregar un ingrediente a una dieta se debe cumplir con distintas características nutricionales para su consumo (Gatlin *et al.*, 2007). Actualmente, se conoce bastante sobre los requerimientos nutricionales de los crustáceos, especialmente en los camarones de la familia *Peneadidae* (Teshima *et al.*, 2001) del mismo modo se han reportado requerimientos nutricionales en especies pertenecientes al género *Macrobrachium* (Teshima *et al.*, 2006; Benítez-Mandujano, 2014) En cuanto a *M. acanthurus* Villafuerte *et al* en 2016 reportaron que el aceite y harina de krill son positivos para la maduración de hembras.

Es importante conocer los requerimientos nutricionales de las primeras etapas de desarrollo y algunas veces en la pre-engorda, etapas en las cuales se utiliza zooplancton como alimento natural (Martínez-Porchas *et al.*, 2010) pues son bien recibidos por los organismos. El estómago de estos organismos es de apenas el 3% de su tamaño total de su cuerpo, por lo cual el proceso de ingesta es una actividad constante (Cuzon *et al.*, 2000.)

Luna *et al.* (2007) nos indica que un cultivo exitoso es el que tiene una buena calidad en la producción en postlarvas. Estudios realizados en estas fases de crecimiento señalan que las proteínas tienen una gran influencia en el crecimiento (Teshima *et al.*, 2006). Durante el desarrollo las postlarvas sufren cambios drásticos en la morfología del intestino anterior y piezas bucales, pues necesitan adaptarse a la diversidad de alimentos disponibles en su nuevo hábitat bentónico (García-Guerrero *et al.*, 2013).

1.6 Nutrición

La nutrición abarca distintos procesos químicos y fisiológicos en los que un organismo asimila los alimentos y líquidos que utilizan para su desarrollo y funciones vitales. La nutrición implica la ingestión, digestión absorción, transporte de nutrientes y eliminación de desecho (Rivero *et al.*, 2007) Las proteínas carbohidratos, lípidos minerales y vitaminas deber estar presente en cualquier dieta con la finalidad de que exista energía para sintetizar tejidos (Méndez Martínez, 2017)

Es muy importante recalcar que la cantidad y calidad de los nutrientes ingeridos generan un efecto directo sobre el crecimiento. Si el alimento tiene alta cantidad de energía y poca proteína el organismo podrá satisfacer sus necesidades energéticas, pero no tendrá la capacidad de formar tejido y estructuras. Por otra parte, sí existe una gran cantidad de proteína y poca energía el organismo no contará con suficiente energía para llevar a cabo sus funciones básicas y necesarias, por lo que lo obtendrá a partir de los aminoácidos lo cual es algo poco redituable en términos costo beneficio ya que se necesita mayor cantidad de energía (ATP) para obtener energía de dichos compuestos (Martínez-Porchas, 2009).

1.7 Proteínas

Las proteínas son el componente más importante para el crecimiento del tejido muscular y el aporte energético y la formación de hormonas, enzimas y reparación, por medio de los aminoácidos esenciales y estructurales. (Méndez Martínez, 2017) Estudios realizados en el género *Macrobrachium* (Teshima *et al.*,

2006; Tabinda *et al.*, 2016), nos indican que los requerimientos de proteínas van del 35 al 40%. Por lo que se debe conocer el contenido de los ingredientes para lograr un desarrollo óptimo en los organismos. Villafuerte *et al.* (2016) determinaron que 37.8% es el requerimiento mínimo para *M. acanthurus*.

Tabla 2 Requerimientos de proteína en porcentaje de algunas especies del género *Macrobrachium*.

Especie	Requerimiento proteico (%)	Autor
<i>M. rosenbergii</i>	36±4	Teshima <i>et al.</i> , (2006).
<i>M. tenellum</i> .	35±5	Espinosa-Chaurand <i>et al.</i> , (2012).
<i>M. malcolmsonii</i>	35	Tabinda <i>et al.</i> , (2016)
<i>M. acanthurus</i>	37.8	Villafuerte <i>et al.</i> , (2016)

1.8 Lípidos.

Los lípidos juegan un rol importante en la nutrición de ciertos crustáceos, no sólo por ser una fuente importante de energía, sino también fuente de ácidos grasos esenciales, esteroides y fosfolípidos (Galano, 1998). Se sabe que los organismos pertenecientes a la familia *Penaeidae*, al estar en periodos de ayuno utilizan los lípidos almacenados para obtener energía (Pascual *et al.*, 2006). Los lípidos están altamente relacionados con la maduración sexual y producción de huevos, así como para el desarrollo de tejidos gonádicos (Hernández-Vergara *et al.*, 2018), lo cual es beneficioso para el desarrollo de embriones.

1.9 Carbohidratos.

La capacidad de utilizar carbohidratos en organismos acuáticos puede variar por la fuente de origen y la especie en la que se use (Tao Ren *et al.*, 2021)., Los estudios realizados por Luna *et al.* (2007) nos sugieren que en postlarvas de *M. rosenbergii* los niveles proteicos mejoran al agregar carbohidratos lo que permite suplir estos requerimientos de una forma más económica. Se ha reportado que los polisacáridos dietéticos, incluidos el almidón o la dextrina, eran mejores para el crecimiento que los mono o disacáridos en el langostino de río oriental (*M. nipponense*) (Kong *et al.*, 2019). Esto tiene sentido ya que los carbohidratos derivados de las dietas con ingredientes como harinas vegetales son útiles cuando sus componentes son utilizados como fuente de energía, en la síntesis de quitina (Clifford y Brick, 1978).

2. Antecedentes.

Estudios realizados por Albertoni *et al.*, (2003) señalan que *M. acanthurus* es una especie con características omnívoras, lo que puede facilitar su cultivo; las especies omnívoras son de interés para el cultivo ya que tienen facilidad para aceptar distintos alimentos (D'Alessandro *et al.*, 2020). Esto indica que dietas con proteínas alternativas presentan buenos resultados para el cultivo de esta especie. Un estudio realizado por Bautista *et al.* (2017) en *Litopenaeus vannamei* señaló que es posible reemplazar de forma eficiente un 85% de la harina de pescado por materias primas de origen vegetal, (en ese caso harina de soya) lo que brinda requerimientos nutricionales garantizando un buen desarrollo durante el cultivo. En la especie *Litopenaeus schmitti* se realizó un estudio alimentado organismos en fase de protozoas sustituyendo el alimento fitoplanctónico por polvo de *Spirulina* sin afectar la supervivencia (Ceballos *et al.*, 2006) Álvarez *et al.*, (2004) reportaron que es posible sustituir hasta un 75% de harina de pescado por harina de soya en juveniles de *L. schmitti* sin afectar su crecimiento. Estos trabajos nos demuestran que las dietas con ingredientes alternativos pueden ser igual de eficientes que dietas convencionales.

2.1 Spirulina.

La *Spirulina* se ha estudiado anteriormente para lograr el cultivo en peces. La *Spirulina* representa una alternativa nutricional para la producción proteica en peces con costos bajos para los sectores más desfavorecidos de la sociedad incidiendo

positivamente en el progreso de la seguridad y soberanía alimentaria (Rincón *et al.*, 2013).

Se ha utilizado *Spirulina* como atrayente en alimento de la especie *Litopenaeus schmitti*, donde solo se agregó un 5% de harina de *Spirulina*, el cual tuvo un 68% de efectividad. Esto presenta una ventaja en cuanto a la detección del alimento lo que permite una menor pérdida de alimento (Ceballos *et al.*, 2006).

La inclusión de *Spirulina* se ha probado en dietas para alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) estudios en los que se observó que con un 15% de *Spirulina* como suplemento alimenticio tuvieron crecimientos superiores en cuanto a dietas convencionales (Bastardo *et al.*, 2017).

Moncayo Vera en 2020 reportó que en cultivos con *Litopenaeus vannamei* con distintas concentraciones de *Spirulina* existió un mayor crecimiento en el tratamiento con mayor cantidad de *Spirulina*, (6%) en comparación a su tratamiento control, lo que nos indica que en organismos decápodos existe una buena aceptación ante la *Spirulina*.

2.2 Krill

La harina de krill ha sido utilizada en la acuicultura con el salmón del Atlántico *Salmon salar* y se obtuvieron organismos saludables y robustos. (AquaFeed, 2015).

Se ha reportado que la harina de krill presenta un buen rendimiento en la alimentación de *Litopenaeus setiferus*. Se realizó un estudio en el cual se agregaron pequeñas cantidades de harina de krill 1, 3, y 5% de esta en el cual se reportó que las dietas con un contenido de 3 y 5% de harina de krill tenían mayor ingesta de alimento (GSA, 2017). Villafuerte *et al.*, registraron en 2016 que la inclusión de

ingredientes provenientes de krill en dietas para organismos reproductores tiene la capacidad de dar un efecto positivo en la calidad de los huevos pues estos ingredientes aumentan la cantidad de lípidos y proteínas conformadores del vitelio.

3. Justificación

Al ser *Macrobrachium acanthurus* una especie de importancia económica para distintas localidades de Tabasco y Veracruz. Es alarmante que sus poblaciones decaigan por causa de las distintas actividades humanas. Del mismo modo existe una problemática actual que es la alta demanda y costos de harina de pescado para alimentar distintas especies de uso comercial haciéndolo difícil de sustentar. Por lo cual el cultivo de esta *M acanthurus* es una alternativa no solo para su conservación y también para generar ingresos a los habitantes de dichas localidades. Debido a lo anterior no solo se busca conocer sus distintos requerimientos nutricionales, también se busca reducir costos de producción utilizando dietas alternativas disminuyendo el uso de harinas de pescado. Debido a lo anterior se requiere conocer si esta especie presenta un buen aprovechamiento de dietas con harinas de *Spirulina* y krill en el estadio de postlarvas.

4. Hipótesis.

La implementación de los ingredientes alternativos: harina de krill y *Spirulina* sustituyendo la harina de pescado 50 y 44% respectivamente, tendrán efecto positivo en el crecimiento de las postlarvas de *M. acanthurus*.

5. Objetivos.

5.1 Objetivo general:

Determinar el crecimiento en masa gr, de ejemplares postlarvas de langostinos *M. acanthurus*, a partir de dietas a base de ingredientes alternativos (krill y *Spirulina*) durante un periodo de sesenta días.

5.2 Objetivos particulares

1. Determinar el efecto de la sustitución parcial de la harina de pescado con harina de krill y de *Spirulina* en el crecimiento de postlarvas de *M. acanthurus*.
2. Determinar el efecto de la sustitución parcial de la harina de pescado con harina de krill y de *Spirulina* en el contenido de lípidos y proteínas de músculo de postlarvas de *M. acanthurus*

6. Materiales y métodos

6.1 Formulación de dietas

Se usaron dietas formuladas con un contenido mínimo de 38% de proteína y de 400 Kcal/100 g. Considerando exclusivamente la porción de la proteína, se utilizaron como fuentes de proteína harina de krill y harina de *Spirulina*, en un 75% y para el 25% restante se usó harina de pescado. Los alimentos fueron mezclados en una medida de 1:1 de aceite de pescado de pescado y de krill, además de colesterol como fuente de lípidos. Se utilizó dextrina como fuente de carbohidratos. Las vitaminas y minerales se adicionaron de acuerdo con Teshima *et al.*, (2006) y se agregó gluten de trigo como aglutinante.

Estas dietas se prepararon de acuerdo con Hernández-Vergara *et al* (2003), pesando

los ingredientes y posteriormente se homogenizaron con los aceites y agua purificada hasta formar una masa. La masa pasó por un molino de Carne Tor Rey (modelo M-12-F5) con un cedazo de 0.5 mm de diámetro para obtener pellets los cuales se secaron en un horno a 60°C durante 24 horas. Al secar se guardaron en bolsas herméticas de plástico y se almacenaron en un congelador a -24°C hasta su uso.

6.2 Análisis químicos proximales.

Se utilizó un equipo Kjelttec 2100 en el análisis de proteína cruda utilizando el método de Kjeldahl, para la determinación de lípidos se utilizó el método de Floch se obtuvo contenido de humedad y cenizas en las dietas y músculo de los organismos de

acuerdo con el manual “Nutrición en Acuicultura análisis químico proximal” (Carrillo et al., 2018).

Tabla 3 Formulación y contenido de las dietas utilizadas para alimentar a los organismos postlarvas de *Macrobrachium acanthurus* Los resultados de análisis químico proximal se obtuvieron en materia seca.

Ingredientes (g/100g)	Krill	<i>Spirulina</i>	Control
Harina de pescado.	14.6	14.6	56.9
Harina de krill.	50	0	0
Harina de Spirulina.	0	44	0
Colesterol	1	1	1
Aceites con mezcla krill pescado (1:1).	10	10	10
Dextrina.	10	10	10
Vitaminas.	2	2	2
Minerales.	5	5	5
Na Citrato.	0.8	0.8	0.8
Na Succinato	0.3	0.3	0.3
DTH	0.3	0.3	0.3
Gluten	5	5	5
Celulosa	1	7	8.7
Total.	100	100	100

Análisis químico proximal.

Proteína cruda (%)	43.1 ± 0.39	37.8 ± 1.22	37 ± 1.88
--------------------	-------------	-------------	-----------

Lípidos totales (%)	9.9 ± 2	14.6 ± 1.54	7.8 ± 0.59
Humedad (%)	3.5 ± 1.34	3.1 ± 0.25	7.2 ± 0.02
Cenizas (%)	8.6 ± 0.9	8.7 ± 0.98	8.8 ± 0.49

6.3 Obtención de organismos

Las postlarvas (peso inicial aproximado de 10 mg) se obtuvieron en mercado de Morelos ubicado en Jardineros #2013, colonia Morelos, delegación Venustiano Carranza.

6.4 Pruebas de alimentación

Se alimentaron con las distintas dietas a los distintos grupos por duplicado con diez organismos por grupo teniendo un total de veinte organismos. Las postlarvas se colocaron en tanques de 20 lt por cada repetición con un promedio de biomasa total de 3683.83 ± 391.77 mg y se colocaron escondites con el fin de prevenir el canibalismo. Se alimentó a los organismos con el 15% de la biomasa total por grupo dos veces al día a las 9:00 y 16:00 hrs. durante un periodo de aproximadamente 60 días y se determinó el crecimiento, se obtuvieron muestras de hepatopáncreas y músculo para determinar el contenido químico-proximal.

6.5 Mantenimiento

Se sifoneó el 20% del agua a diario y remplazaba con agua limpia. En cuanto al estado a los valores fisicoquímicos se monitoreo la temperatura (°C) a diario. A lo largo de la prueba de alimentación se registraron las variables físicas y químicas: temperatura y cada 10 días se midió el nitrógeno amoniacal (N-NH₃) utilizando las técnicas de Nessler (método 8083, reactivos Hach, Hach CO., Colorado USA), utilizando un espectrofotómetro (modelo DR 2800, Hach CO., Colorado USA.)

6.6 Biometrías

Durante la prueba de alimentación se realizaron las biometrías de los organismos cada quince días iniciando el día cero del experimento y terminado el día sesenta con postlarvas utilizando una balanza analítica (marca Denver Instrument, modelo TP-6201), para obtener el peso fresco y ajustar la cantidad de alimento.



Figura 2 Organismos durante la prueba de alimentación

6.7 Parámetros de crecimiento:

Ganancia en peso: Es el incremento en masa de un organismo durante un periodo de tiempo medido en mg.

$$GP(\%) = \left(\frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} \right) 100$$

Tasa de peso específico: Incremento de masa de un organismo expresado en porcentaje por día.

$$TCE (\%/día) = \left(\frac{\text{In Peso final} - \text{In Peso inicial}}{\text{Días}} \right) 100$$

6.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con las pruebas W de Shapiros y Wilk y de

Barlett, para homocedasticidad y normalidad, respectivamente. Al mostrar ser normales y homocedásticos se utilizó una ANOVA de una vía para analizarlos y las diferencias entre los tratamientos se evaluaron con una prueba de Fisher LSD (Zar, 1999).

7. Resultados

7.1 parámetros físicos y químicos

Durante los 60 días de la prueba de alimentación se midieron algunos parámetros físicos y químicos (temperatura y N-NH₃) de los cuales se obtuvo su promedio.

Tabla 4 Valores promedio ± desviación estándar de las características fisicoquímicas del agua por cada tratamiento durante la prueba de alimentación

	Control	Krill	<i>Spirulina</i>
Temperatura (°C)	28.5 ± 0.37	28.3 ± .0.17	28.7 ± .11
N-NH ₃ (mg/L)	0.21 ± 0.12	0.23 ± 0.12	0.12 ± 0.1

7.2 Parámetros de crecimiento

El peso (mg) de los organismos tuvo variaciones entre 1400 y 2200 mg. Con los datos recabados durante la prueba de alimentación se analizaron sin encontrar diferencias significativas en ninguna de las pruebas realizadas en el crecimiento de los distintos tratamientos en cuanto a su aumento en masa. La grafica TCE se observa que existieron variaciones mínimas de entre el 0.46 a 0.65% en la tasa de crecimiento específico sin mostrar diferencias significativas. En cuanto a la gráfica Ganancia en peso existieron variaciones de entre el 40 al 55% sin mostrar diferencias significativas (ANOVA de un factor $p > 0.05$).

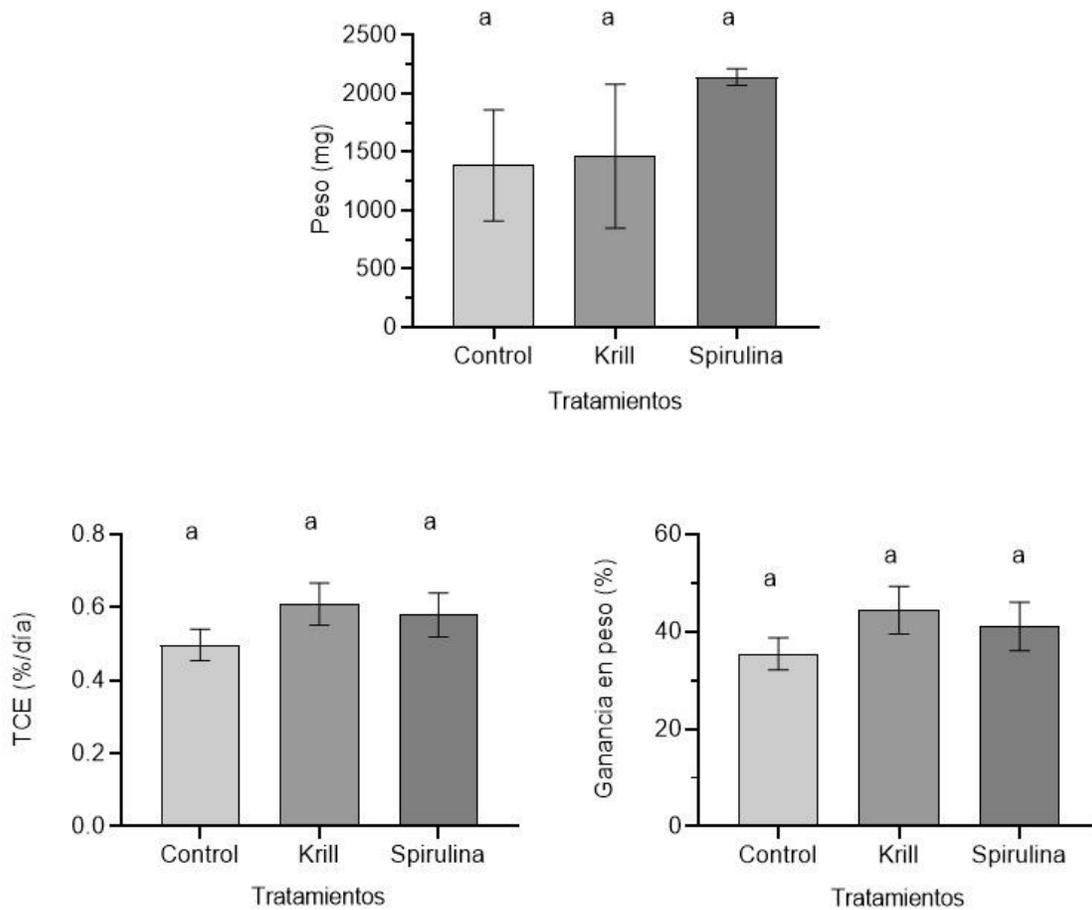


Figura 3. Graficas del efecto de los distintos tratamientos en peso final, porcentaje de ganancia en peso (GP) y porcentaje de peso específico (TCE) en las postlarvas de *Macrhombrachium acanthurus*.

7.3 Composición química corporal

Al finalizar los 60 días de experimento se sacrificaron a los organismos con el objetivo de conocer el contenido de lípidos y proteínas en el músculo de los organismos en los tres tratamientos diferentes. En la figura 4 podemos observar las gráficas pertenecientes a contenido proteico y lipídico en músculo de postlarvas. En la primera se puede observar que no existió ninguna diferencia significativa ($p > 0.05$) en el porcentaje de proteína entre organismos de los

distintos tratamientos. En la gráfica “contenido lípidos” se observa, que el contenido lipídico en músculo tiene mayor concentración en el tratamiento *Spirulina*, reflejando diferencias significativas ante los otros dos tratamientos. ($p < 0.05$).

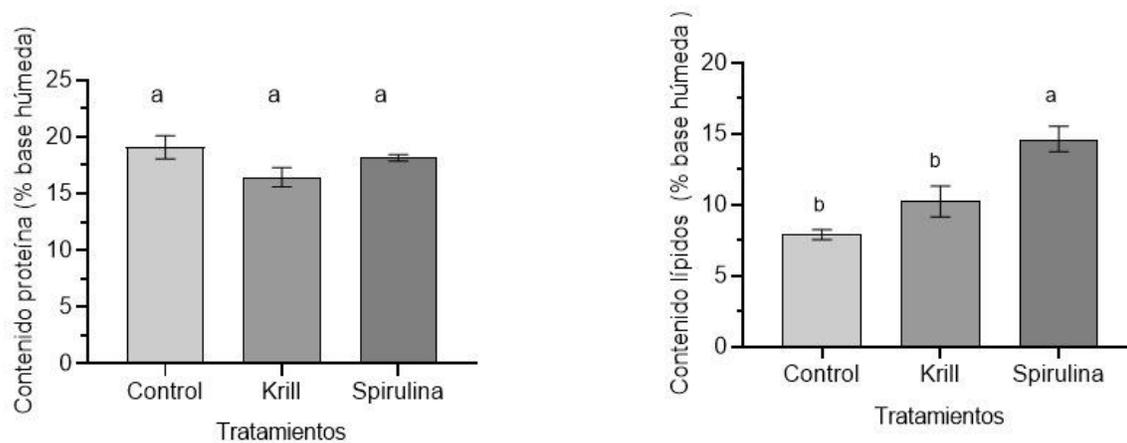


Figura 4. Graficas del efecto de los distintos tratamientos en contenido proteico y lipídico en músculo de postlarvas de *Macrobrachium acanthurus*.

8. Discusión

Es de gran importancia evaluar los ingredientes incluidos en las dietas para la investigación nutricional y el mejoramiento de alimentos balanceados en las especies acuícolas (Glencross, 2007). La alimentación para crustáceos debe tener muy presente el contenido de proteína, pues esto tiene repercusiones importantes en el crecimiento de dichos organismos (Suárez López *et al.*, 2006) y de este modo utilizar ingredientes beneficios para los organismos y su desarrollo.

En estudios anteriores se ha utilizado la *Spirulina* como suplemento en dietas balanceadas con inclusión de esta, en *Litopenaeus schmitti* (Ceballos, 2006) donde observaron que al agregar pequeños porcentajes (2.5 y 5%) de *Spirulina* existe una mejor alimentación de los organismos, por lo que se observa que al agregar cantidades mayores los organismos, en el caso de los organismos *M. acanthurus* es bien recibido al momento de alimentarse. Los resultados de Macias-Sancho *et al.*, en 2017 nos mostraron que el uso de *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) como suplemento alimenticio en *Litopenaeus vanamei* mejora el desempeño de forma zootécnica relacionados a los que no recibieron el suplemento en sus tratamientos, reportaron que la inclusión de *Spirulina* es ideal en crustáceos ya que tienen la capacidad de filtrar, ingerir y digerir microalgas suspendidas en la columna de agua. Datos que reflejan como el consumo de estas dietas es beneficio para las postlarvas, como se observa al competir en cuanto a crecimiento (mg) con la dieta control. Pakravan, *et al* realizaron un estudio en 2017 sustituyendo la harina de pescado con harina de *Spirulina* en un 0, 25, 50, 75 y 100% de harina en *L. vanamei*, en el cual no

encontrar diferencias significativas en cuanto al crecimiento (cm y g) de los organismos, datos muy similares respecto a este estudio. En organismos pertenecientes a *M. rosenbergii*, se ha reportado que la *Spirulina* es útil para mejorar la calidad de la carne en la especie (Montoya-Martínez *et al.*, 2016).

Anteriormente se reportó que los crustáceos presentan un aumento en su crecimiento utilizando distintas especies de microalgas dentro de la producción acuícola (Peña-Rodríguez *et al.*, 2010; Cruz-Suarez *et al.*, 2010). También Bhavan *et al* (2010) determinaron que el crecimiento de postlarvas de *M. rosenbergii* enriquecido con *Spirulina* producen un mayor crecimiento que con otras harinas como la levadura.

Se infiere que a diferencia de los resultados de Ceballos 2006 y Macias-Sancho *et al.*, 2017 en los tratamientos de este experimento no existieron diferencias significativas debido a que la *Spirulina* no fue utilizada como suplemento ni se filtró, sino que fue utilizada como harina base de la dieta sustituyendo un 75% de la harina de pescado, pero se puede mostrar que el uso de *Spirulina* es bien recibido por decápodos carideos. Los resultados presentes son más similares a los de Pakravan *et al.*, (2017) mostrando que la harina de *Spirulina* puede desempeñarse bien como harina base en dietas para postlarvas *M. acanthurus*.

El tratamiento con harina de *Spirulina* mostro tener crecimiento ligeramente mayor en cuanto al crecimiento general ante las otras dietas, pero sin presentar ninguna, respecto a TCE y ganancia en peso fue mayor al de la dieta control y con valores muy similares a la dieta de krill, en lo que se puede observar que no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) ante las otras dos dietas

Existen trabajos realizados en especies en el infraorden *caridea* como el estudio realizado por Murai *et al* (1983) en el que reemplazaron el uso de harina de pescado por harina de krill en dietas para *Penaeus monodon* sin encontrar diferencias significativas en cuanto al crecimiento, resultados que coinciden con los del presente trabajo. Del mismo modo que con la harina de *Spirulina* la harina de krill ha sido utilizada como suplemento alimenticio para distintas especies de decápodos, siendo el caso de Ambasankar *et al.*, en 2022 estudio en el cual hubo inclusión de harina de 2, 4, 6, 12% de harina de krill en el cual encontraron que los organismos pertenecientes a *L. vanamei* tuvieron un aumento de peso en los grupos de 4 y 6% lo que podemos adjudicar que agregar estas cantidades junto con la harina de pescado sirva como atrayente suficiente en conjunto. Leonardi *et al.*, en 2021 reportaron que la inclusión de harina de krill como suplemento alimenticio en la especie *L. vanamei* en concentraciones de 2 y 3% tiene buenos resultados en cuanto a crecimiento (g) fueron mejores ante la dieta con 1% de concentración harina de krill y el control, con resultados similares a los de Ambasankar *et al.*, en 2022 con los que podemos comprender que la harina de krill es bien recibida por estos organismos y lo observamos al ver los resultados de peso en el presente trabajo, en el cual la sustitución de harina de pescado por krill fue de un 77%.

Se encuentran otros estudios realizados con *Litopenaeus stillostris* en organismos juveniles con sustitución de harina de krill de 33, 34, 37,40, 44, 48% en el cual tuvieron mejores resultados en niveles de 33%, (Baillet *et al.*, 1997). A diferencia del estudio actual, en *M acanthurus*. Se puede suponer que al superar

más del 50% de harina de krill esta funge con igual eficacia que la harina de pescado, igualmente que esta es mejor recibida por este género en comparación con los anteriores.

En el grupo experimental de dietas de harina de kril existió una tendencia muy similar en la ganancia en peso al del grupo control, pero sin diferencias significativas ante el grupo experimental de *Spirulina*. Hablando de TCE y ganancia en peso mostro de forma estadística un porcentaje mayor ante los otros dos grupos, pero sin tener presente diferencias significativas ($p > 0.5$).

En la figura 4 se señalan las distintas concentraciones de proteína en músculo dentro de los tres grupos experimentales no muestran diferencias significativa, lo que nos indica que la producción proteica en el músculo es muy parecida en los tres grupos, sugiriendo que la capacidad de asimilar la proteína de la harina de krill y *Spirulina* es casi igual a la de harina de pescado; el grupo con harina de krill mostro ligeramente una menor asimilación de la proteínas a pesar de tener más proteína en la dieta que las otras dos (alrededor de un 6%). Teniendo un 2% menos que la dieta control y *Spirulina* las cuales tuvieron un contenido de entre 18 y 19% de proteína en músculo. Hernández-Abad *et al.*, 2018 registraron la concentración proteica en músculo de hebras alimentadas con distintas concentraciones de lípidos estudio en el cual se observó que con una inclusión de 10 y 12.5% de lípidos es mejor ante la inclusión de 15% de lípidos, lo que se puede observar ligeramente que al tener una cantidad mayor de lípidos en la dieta de *Spirulina* estos aumentaron ligeramente la concentración de proteína en el

músculo de las postlarvas. Sin embargo, no existe ningún impedimento en utilizar alguna de los ingredientes alternativos como fuente de proteína.

Hablando del contenido lipídico en el músculo de los organismos, este tuvo una mayor concentración dentro del grupo de *Spirulina* presentando diferencias significativas ante los grupos control y krill los cuales no tuvieron diferencias significativas entre ellos, debido a que las microalgas como la *Spirulina* contienen cuatro grupos de compuestos funcionales existentes en ellos, uno de los cuales son los lípidos (Canavate, 2013) lo que es proporcional a la concentración lipídica dentro de la dieta pues esta tuvo entre un 5 y 7% más que las otras dietas (control y krill). Hernández-Abad *et al.*, 2018 realizaron un estudio en hembras de *Macrobrachium acanthurus* en el cual aplicaron distintas concentraciones de lípidos (10, 12.5, 15, 17.5 y 20%) en el cual se observó que el porcentaje de lípidos en la dieta afecta directamente a la concentración de lípidos en músculo teniendo como resultados que al tener más de 12% este aumenta significativamente en el músculo coincidiendo con los datos del presente trabajo. Por lo que podemos inferir que la dieta tuvo un mayor aprovechamiento por parte de los organismos o que los lípidos al tener más concentración en la *Spirulina* se depositan en mayor cantidad en el músculo que la proteína al menos en este estadio (postlarva) a diferencia del estadio de adulto cuando los lípidos son utilizados para la maduración sexual, teniendo este conocimiento (Hernández-Vergara *et al.*, 2018) podemos inferir que los lípidos se depositan en el músculo guardados como reservas de energía.

9. Conclusiones

Ambos grupos experimentales presentaron una ganancia muy similar en peso a comparación con la ganancia del grupo control en la tasa de crecimiento específico. Esto resultados se pueden relacionar que a pesar de ser un cambio de harina base los niveles sobrepasaron al de la dieta control (2% en krill y 4% en *Spirulina*) y en cuanto al grupo experimental de *Spirulina* éste tuvo mayor concentración de lípidos totales con diferencias significativas a los dos anteriores, lo que es relacionado con que los lípidos son nutrientes esenciales para los langostinos *M. acanthurus*.

Ninguna de las dietas mostró diferencias significativas, entre ellas, por lo que podemos tomar la harina krill o *Spirulina* para mantener el crecimiento de los organismos.

Los resultados del presente trabajo nos señalan que, bajo las condiciones mencionadas, la harina de krill y de *Spirulina* son bien recibidas por postlarvas de *M. acanthurus* para su crecimiento como dietas alternativas.

10. Recomendaciones para la investigación futura.

Tomando como punto de partida los resultados presentes se proponen distintos puntos con el objetivo de conocer más sobre la nutrición con uso de estas harinas para implementar o mejorar el su cultivo:

- Estudiar el contenido lipídico de postlarvas de langostinos *M. acanthurus* después de pruebas como esta, con el fin de observar si los lípidos proporcionados por ambas dietas pueden tener algún impacto en este.
- Utilizar organismos de *M. acanthurus* criados desde larvas bajo condiciones de laboratorio lo que permitiría resultados con mayor fiabilidad.
- Realizar estudios con distintas concentraciones de dichas harinas desde un 50% hasta una sustitución total de harina de pescado, para determinar si alguna concentración sea de harina de krill o *Spirulina* sea la óptima para el cultivo de postlarvas de *M. acanthurus*.

11. Literatura citada.

- Albertoni, E. F., Palma-Silva, C., y Esteves, F. D. A. (2003). Natural diet of three species of shrimp in a tropical coastal lagoon. *Brazilian archives of biology and technology*, 46, 395-403.
- AquaFeed Español. (2015, 5 febrero). La Harina de krill mejora la Salud y la Calidad del Filete del Salmón del Atlántico. Recuperado 26 de septiembre de 2022, de <https://aquafeed.co/entrada/la-harina-de-krill-mejora-la-salud-y-la-calidad-del-filete-del-salmon-del-atlantico-22931>
- Ahsan, M., Habib, B., Parvin, M., Huntington, T. C., y Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production, and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals.
- Álvarez, F., Mejía-Ortiz, L., Viccon-Pale, J., y Román, R. (2001). Fecundity and distribution of freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* in the Huitzilapan River, Veracruz, Mexico. *Crustaceana*, 74(1), 69-77.
- Álvarez, J. S., García, T., Villarreal, H., Galindo, J., Fraga, I., y Pelegrín, E. (2004). Alternativas para obtener alimentos más eficientes en el engorde semintensivo del camarón blanco *Litopenaeus schmitti*. *Avances en Nutrición Acuícola*.
- Ambasankar, K., Dayal, J. S., Vasagam, K. K., Sivaramakrishnan, T., Sandeep, K. P., Panigrahi, A., ... y Vijayan, K. K. (2022). Growth, fatty acid composition, immune-related gene expression, histology and haematology

indices of *Litopenaeus vannamei* fed graded levels of Antarctic krill meal at two different fishmeal concentrations. *Aquaculture*, 553, 738069.

- Bauer, R. T., y Delahoussaye, J. (2008). Life history migrations of the amphidromous river shrimp from a continental large river system. *Journal of Crustacean Biology*, 28(4), 622-632
- Bauer, R. T. (2011). Amphidromy and migrations of freshwater shrimps. I. Costs, benefits, evolutionary origins, and an unusual case of amphidromy. In *New frontiers in crustacean biology* (pp. 145-156). Brill.
- Bautista, J. F. F., Vergara, R., y Suarez, A. (2017). Evaluación de una fórmula alimenticia para camarón de cultivo (*L. vannamei*) con inclusión de proteína vegetal a base de harina de soya. *Revista AquaTIC*, 1(44), 12-29.
- Baillet, C., Cuzon, G., Cousin, M., y Kerleguer, C. (1997). Effect of dietary protein levels on growth of *Penaeus stylirostris* juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 3(1), 49-53.
- Bhavan, P. S., Devi, V. G., Shanti, R., Radhakrishnan, S., y Poongodi, R. (2010). Basic biochemical constituents and profiles of amino acids in the post larvae of *Macrobrachium rosenbergii* fed with *Spirulina* and yeast enriched *Artemia*. *Journal of Scientific Research*, 2(3), 539-539.
- Bayer, R. C., Gallagher, M. L., Leavitt, D. F., y Rittenburg, J. H. (1979). A radiographic study of the lobster (*Homarus americanus*) alimentary canal. In *Proceedings of the World Mariculture Society* (Vol. 10, No. 1-4, pp. 561-564). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

- Bastardo, H., Medina, A., y Bianchi, G. (2017). Utilización de proteína no convencional en dietas para iniciador de trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* Nonconventional protein use in diets for initiator of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.
- Benítez-Mandujano, M., y Ponce-Palafox, J. T. (2014). Effects of different dietary of protein and lipid levels on the growth of freshwater prawns (*Macrobrachium carcinus*) broodstock. *Revista MVZ Córdoba*, 19(1), 3921-3929.
- Carrillo Longoria, J. A. (2018). Nutrición en acuicultura Análisis químico proximal. UNAM. (Obra original publicada en 2018) 38-44 pp.
- Canavate, J. (2013). Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura. Asociación Cultural Foro dos Recursos Mariños y da Acuicultura, 18.
- Ceccaldi, H. J. (1997). Anatomy and physiology of the digestive system of Crustacean, in" Crustacean Nutrition" World Mariculture Soc. LD'Abramo and D. Conklin. *Adv. in World Aquaculture*, 6, 261-291.
- Ceballos, B. J., Hernández-Llamas, A., García-Galano, T., y Villarreal, H. (2006). Substitution of *Chaetoceros muelleri* by *Spirulina platensis* meal in diets for *Litopenaeus schmitti* larvae. *Aquaculture*, 260(1-4), 215-220.
- CONAPESCA Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2018. México, SAGARPA (2020a). Programa Nacional de Pesca y Acuicultura 2020-2024. Publicado el 30 diciembre de 2020. Recuperado el 11 de enero del 2023 https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/616554/PROGRAMA_Nacional_de_Pesca_y_Acuicultura_2020-2024baja.pdf

- Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G., y Van Wormhoudt, A. (2000). Utilization of carbohydrates by shrimp. *Avances en Nutrición Acuícola*.
- Choudhury, P. C. (1971). Laboratory rearing of larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836). *Crustaceana*, 21(2), 113-126
- Clifford III, H. C., y Brick, R. W. (1978, March). Protein utilization in the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. In *Proceedings of the annual meeting-World Mariculture Society* (Vol. 9, No. 1-4, pp. 195-208). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., y Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/*Ulva* co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301(1-4), 64-68.
- Cruz-Sánchez, J. L., Wakida-Kusunoki, A. T., Perera-García, M. A., & Brito-Pérez, R. (2018). Fecundidad del camarón de río *Macrobrachium acanthurus* (Decapoda: Palaemonidae) en el río Palizada, Campeche, México. *Ciencia Pesquera*, 26(1), 37-43.
- Díaz Lozano, J. F., y León, J. G. (2014). Utilización de espirulina *Spirulina maxima* en la alimentación de alevinos de trucha arcoíris *Oncorhynchus mikyss*.
- D'Alessandro, M. E., y Collins, P. (2020). Manipulación nutricional en el camarón *Macrobrachium borellii* del río Paraná (Argentina) como recurso para la alimentación humana. *Limnetica*, 39(1), 499-510.

- Espinosa-Chaurand, L., Flores-Zepeda, C., Nolasco-Soria, H., Carrillo-Farnes, O., y Vega-Villasante, F. (2012). Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el desarrollo de juveniles de *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871). Revista MVZ Córdoba, 17(3), 3140-3146.
- Espinosa-Chaurand, L. D. (2013). La actividad enzimática digestiva y su aplicación nutricional en el langostino *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) (Doctoral dissertation, Doctoral Dissertation. Universidad de Guadalajara, México).
- FAO, P., y Kambou, S. (s/f). DE LA PESCA Y LA ACUICULTURA. Fao.org. Recuperado el 17 de noviembre de 2022, de <https://www.fao.org/3/i9540es/i9540es.pdf>
- Felgenhauer, B. E. (1992). Internal anatomy of the Decapoda: an overview. Microscopic anatomy of invertebrates, 10, 45-75.
- Freire, C. A., Ríos, L. D. P., Giaretta, E. P., & Castellano, G. C. (2017). Oxygen consumption remains stable while ammonia excretion is reduced upon short time exposure to high salinity in *Macrobrachium acanthurus* (Caridae: Palaemonidae), a recent freshwater colonizer. Zoología (Curitiba), 34
- Galano, T. G. (1998). Nutrición de Larvas de Camarón. Avances en Nutrición Acuícola.
- García-Guerrero, MU, F. Becerril-Morales, F. Vega-Villasante y LD Espinosa-Chaurand. (2013). Los langostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera en América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. Lat. Soy. J. Aquat. Res. 41: 651-675.

- Gatlin III, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., ... y Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture research*, 38(6), 551-579.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., y Métailler, R. (2003). *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 2004.
- Ismiño-Orbe RA, Araujo-Lima C, Rego-Monteiro A, de Carvalho-Gomes L. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. *Pesq agropec Bras*, 38, 1243-1247.
- Glencross, B. D., Booth, M., y Allan, G. L. (2007). A feed is only as good as its ingredients—a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture nutrition*, 13(1), 17-34.
- Global Seafood Alliance. (2017, 11 diciembre). La harina de krill tiene buen rendimiento en experimentos de alimentación del camarón - Responsible Seafood Advocate. Recuperado 26 de septiembre de 2022, de <https://www.globalseafood.org/advocate/la-harina-de-krill/>
- Granados Berber, A. A. (1984). Aspectos reproductivos del camarón prieto *Macrobrachium acanthurus* Wiegman, 1836 en la cuenca del Rio González, Tabasco, México Crustacea Decapoda Palaemonidae. In *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma de México* (Vol. 111, pp. 1-22).
- Hernández-Abad, G. Y., Hernández-Hernández, L. H., y Fernández-Araiza, M. A. (2018). Effects of different dietary lipids concentrations on the egg

production and egg quality produced by *Macrobrachium acanthurus* females. Latin american journal of aquatic research, 46(3), 518-524.

- Hernández-Valencia, A. (2010). Evaluación de la frecuencia alimenticia en cultivo larvario del langostino de río *Macrobrachium americanum* Bate, 1868 (Decapoda. Palaemonidae), en Guasave de Levva, Sinaloa y Coyuca de Benítez, Guerrero. Guasave de Leyva, Sinaloa y Coyuca de Benítez, Guerrero.
- Hernández-Vergara, M.P., D.B. Rouse, M.A. Olvera-Novoa y D.A. Davis. (2003). Effects of dietary lipid level and source on growth and proximate composition of juveniles redclaw (*Cherax quadricarinatus*) reared under semi-intensive culture conditions. *Aquaculture*, 223: 107-115.
- Hernández-Vergara, M. P., Cruz-Ordóñez, S. B., Pérez-Rostro, C. I., y Pérez-Legaspi, I. A. (2018). Polyculture of crayfish (*Procambarus acanthophorus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a strategy for sustainable water use. *Hidrobiológica*, 28(1), 11-15. River carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 21, 100776.
- Holthuis, L. B. (1952). A general revision of the Palaemonidae (crustacea Decapod Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemonidae.
- Holthuis, L.B. and P.K.L. Ng (2010) Nomenclature and taxonomy. In M.B. New, W.C. Valenti, J.H. Tidwell, L.R. D'Abramo and M.N. Kutty (eds.). *Freshwater Prawns: Biology and Farming*. John Wiley y Sons, p. 560.
- Kong, Y., Ding, Z., Zhang, Y., Zhou, P., Wu, C., Zhu, M., y Ye, J. (2019). Types of carbohydrate in feed affect the growth performance, antioxidant

- capacity, immunity, and activity of digestive and carbohydrate metabolism enzymes in juvenile *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture*, 512, 734282.
- Kutty, MN y WC Valenti. 2010. Cultivo de otras especies de langostinos de agua dulce. En: MB New, WC Valenti, JH Tidwell, LR D´Abramo y MN Kutty (eds.) *Langostinos de agua dulce: biología y cultivo*. Blackwell Publishing, Oxford, págs. 502-523.
 - Leonardi, G., Nunes, A. J., Badillo, M., y Burri, L. 2021. High protein krill meal as a tool to optimize low-cost formulas for juvenile *Litopenaeus vannamei* diets farmed under semi-intensive conditions. *Journal of Applied Aquaculture*, 1-11.
 - Luna, M., Graziani, C., Villarroel, E., Lemus, M., Lodeiros, C., y Salazar, G. (2007). Evaluación de tres dietas con diferente contenido proteico en el cultivo de postlarvas del langostino de río *Macrobrachium rosenbergii*. *Zootecnia tropical*, 25(2), 111-121.
 - Loran-Núñez, R. M. (2013). Aspectos poblacionales del langostino *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) en algunos lugares de la cuenca baja del río Papaloapan, Veracruz, México (Doctoral dissertation, Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 71p).
 - MACIAS-SANCHO, J., Holanda, M., Romano, L. A., Wasielesky, W., Tesser, M. B., y Poersch, L. H. (2017). *Arthrospira platensis* filtrada como alimento complementario de juveniles del camarón blanco: Efectos sobre

crecimiento y sistema inmune. Boletim do instituto de Pesca, 43(4), 593-604.

- Martin, G. G., Simcox, R., Nguyen, A., y Chilingaryan, A. (2006). Peritrophic membrane of the penaeid shrimp *Sicyonia ingentis*: structure, formation, and permeability. The Biological Bulletin, 211(3), 275-285.
- Martínez-Porchas, M., Ramos-Enríquez, R., y Martínez-Córdova, L. R. (2009). Dinámica de crecimiento de peces y crustáceos. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria, 10(10), 1-16.
- Martínez-Porchas, M., Martínez-Córdova, L. R., Porchas-Cornejo, M. A., y López-Elías, J. A. (2010). Shrimp polyculture: a potentially profitable, sustainable, but uncommon aquacultural practice. Reviews in Aquaculture, 2(2), 73-85.
- Méndez Martínez, Y. (2017). Requerimientos de proteína y energía en juveniles de langostino de río *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868).
- Moncayo Vera, D. J. (2020). Medición de variables zootécnicas en el cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus Vannamei*), alimentados con dietas balanceadas con inclusión de Espirulina (Bachelor's thesis, Quevedo-Ecuador).
- Montoya-Martínez, C., Nolasco-Soria, H., Carrillo-Farnés, O., Civera-Cerecedo, R., González, C. Á., y Vega-Villasante, F. (2016). Chemical score of different protein sources to four *Macrobrachium* species. Latin American Journal of Aquatic Research, 44(4), 835-844.

- Murai, T., Sumalangcay Jr, A., y Piedad-Pascual, F. (1983). Supplement of various attractants to a practical diet for juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. Fisheries Research Journal of the Philippines, 8(2), 61-67.
- National Research Council. (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. National academies press.
- Pakravan, S., Akbarzadeh, A., Sajjadi, M. M., Hajimoradloo, A., y Noori, F. (2017). Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. Aquaculture Research, 48(11), 5576-5586.
- Peña Rodríguez, A., León, A., Moll, B., Tapia Salazar, M., Nieto López, M. G., Villarreal Cavazos, D. A., ... y Cruz Suárez, L. E. (2010). Uso de *Ulva clathrata* en la nutrición del camarón blanco: revisión
- Pascual, C., Rodríguez, T., y Rosas, C. (2006). Inmunidad y nutrición. Rosas, C.; Carrilo, C, 294-318.
- Quadros, M. L. A., Maciel, C., Bastos, S., y Sampaio, I. (2004). Reprodução do camarão canela-*Macrobrachium acanthurus* em condições controladas de laboratório e montagem de um atlas para identificação de estágios larvais. Revista Científica da UFPA [http://www. ufpa. br/revistaic](http://www.ufpa.br/revistaic) Vol, 1.
- Rincón Rodríguez, D. D., Semprún Avendaño, A. M., Dávila Ojeda, M. J., Velásquez Gonzalez, H. A., Morales Avendaño, E. D., Hernández Rangel, J. L. (2013). Producción de harina de *Spirulina* máxima para ser empleada

como ingrediente en la elaboración de dietas para peces. *Zootecnia Tropical*, 31(3), 187-192.

- Rivero-Rodríguez, S., Beaumont, A. R., y Lora-Vilchis, M. C. (2007). The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. *Aquaculture*, 263(1-4), 199-210.
- Rószler, T. The invertebrate midintestinal gland (“hepatopancreas”) is an evolutionary forerunner in the integration of immunity and metabolism. *Cell Tissue Res* 358, 685–695 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1985-7>
- Strohmeyer, C. (2011). *Spirulina* algae; The aquatic health benefits for tropical, marine and goldfish. *American aquarium*. consultado el, 10.
- Suárez López, M. M., Kizlansky, A., y López, L. B. (2006). Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutrición hospitalaria*, 21(1), 47-51.
- Tabinda, A. B., Ali, R., Abdullah, Y., y Riaz, G. (2016). Growth Response of the Freshwater Prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (Juveniles) to Isocaloric Diets with Variable Protein Levels. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(2).
- Tao Ren, H., Jing Zhao, X., Huang, Y., & Li Xiong, J. (2021). Combined effect of *Spirulina* and ferrous fumarate on growth parameters, pigmentation, digestive enzyme activity, antioxidant enzyme activity and fatty acids composition of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 21, 100776.

- Teshima, S. I., Koshio, S., Ishikawa, M., y Kanazawa, A. (2001). Protein requirement of the prawn *Marsupenaeus japonicus* estimated by a factorial method. *Hydrobiologia*, 449(1), 293-300.
- Teshima, S. I., Koshio, S., Ishikawa, M., Alam, M. S., y Hernandez Hernandez, L. H. (2006). Protein requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* evaluated by the factorial method. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(2), 145-153.
- Troell, M., Kautsky, N., Beveridge, M., Henriksson, P., Primavera, J., Rönnbäck, P., y Folke, C. (2013). Aquaculture. En *Encyclopedia of Biodiversity* (pp. 189–201). Elsevier.
- Valencia, D. M y Campos, M. R. (2007). Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: palaemonidae) of Colombia. *Zootaxa*, 1456(1), 1-44.
- Vázquez, L., Consultor, V., León, I., Vasti, L., Apolinar, Á., Vázquez-Arce, D., Vázquez-Vera, L., y Hernández, A. (s/f). *Revisión editorial y corrección de estilo Bárbara Castellanos Rafful Diseño gráfico y editorial*. Fmcn.org. Recuperado el 11 de enero 2022, de https://fmcn.org/uploads/publication/file/pdf/Libro%20Acuacultura_2022.pdf
- Vega-Villasante, F., García-Guerrero, M. U., Cortés-Jacinto, E., Yamasaki-Granados, S., Montoya-Martínez, C. E., Vargas-Ceballos, M. A., y Nolasco-Soria, H. G. (2014). Los camarones de agua dulce del género *Macrobrachium*: biología, ecología y explotación. *Temas sobre investigaciones costeras*. Universidad de Guadalajara, Jalisco, 273-315.

- Villafuerte, MA, LHH Hernández, MAA Fernández y OL Ángeles. (2016). Contribución del conocimiento de los requerimientos de nutrientes del camarón de agua dulce nativo (*Macrobrachium acanthurus*). *Hidrobiológica*, 26: 15-22.
- Vogt, G. (1993). Differentiation of B-cells in the hepatopancreas of the prawn *Penaeus monodon*. *Acta Zoologica*, 74(1), 51-60
- Wiegmann, A. F. A. (1836). Beschreibung einiger neuen crustaceen des Berliner Museums aus Mexiko und Brasilien. *Archiv für Naturgeschichte*, 2(1), 145-151.
- Yamasaki-Granados, S., M. Ruiz-Fragoso, F. Vega-Villasante, LD Espinosa-Chaurand, E. Cortés-Jacinto y M. Oliva-Suárez. (2012). Contribución a la biología de la muda y crecimiento del camarón *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) (Decapoda: Palemonidae). *Arco. Biol. Sci.* 64: 651-658.
- Zar, JH (1999). *Análisis bioestadístico*. Prentice Hall, Nueva Jersey, 663 pp.

Anexos

Anexo 1 Contenido de Humedad

Fundamento

El contenido de humedad determina la cantidad de agua contenida en un ingrediente o alimento. Esta técnica se basa en la pérdida de peso de una muestra, al someterla a altas temperaturas (100°C) para promover la pérdida de agua por evaporación. Para ellos es necesario pesar la muestra tanto al inicio de la prueba (peso húmedo) como posterior al proceso de secado (peso seco), con el fin de obtener la diferencia entre ambas determinaciones, lo cual representará la humedad de la muestra. La técnica puede aplicarse a muestras de ingredientes y alimentos, así como en algunos tejidos como músculo o en aquellos en los que la muestra no pierda integridad.

Equipo

- Horno de convección
- Balanza semi-analítica
- Desecador

Materiales

- Crisoles de aluminio
- Pinzas para crisol
- Guantes de látex
- Espátula

Consideraciones:

Se debe utilizar pinzas para evitar quemaduras a la hora del manejo de los crisoles, y guantes de látex o nitrilo para no contaminar ni afectar el peso de los crisoles fríos con la grasa de los dedos.

Procedimiento

Antes de iniciar se deben lavar los crisoles utilizando jabón libre de fosfato, enjuagar con agua corriente del grifo y después enjuagar con agua destilada, una vez secos y rotulados para la identificación y diferenciación entre muestras

Para obtener mediciones adecuadas, los crisoles se deben liberar de humedad, obteniendo su peso real, para asegurar esto último se debe secar y llevar a peso constante sin que exista variación de no más de 0.001 g entre los registros de peso, de la siguiente manera:

1. Colocar crisoles de aluminio en un horno de convección precalentado a 100°C por un periodo de 2 hrs.

2. Colocar en un desecador y después de un periodo de 10 min de enfriamiento y para evitar ganancia de humedad, pesar en balanza semi-analítica.
3. Regresar crisoles al horno por un periodo de 2 hrs y volver a pesar.
4. Continuar así hasta obtener el peso constante, llegando a este, los crisoles se colocan en un desecador hasta su uso.

Posteriormente se debe hacer lo mismo con la muestra con las siguientes variaciones:

1. Pesar muestra en una balanza semi-analítica y registrar el peso exacto.
2. Colocar la muestra en el crisol previamente pesado.
3. Meter el crisol con la muestra al horno de convección a 100°C durante 4 hrs.
4. Utilizando pinzas, sacar los crisoles del horno y colocarlos en el desecador para evitar ganancia de humedad. Después de un periodo de entre 10 min a 15 min de enfriamiento, se pesan y registran los pesos.
5. En caso de que las mediciones no presenten un peso constante, regresar crisoles al horno por un periodo de 2 hrs y volver a pesar luego de los 10 a 15 min de enfriación en el desecador.
6. Continuar así hasta obtener el peso constante, llegando a este, los crisoles se colocan en un desecador hasta su uso.

Cálculos

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)100}{P_1}$$

Donde: P1 = peso (g) de la muestra antes de secar

P2 = peso (g) de la muestra después de secar.

Anexo 2 Contenido de cenizas

Fundamento

Las cenizas son los residuos inorgánicos que quedan después de la calcinación de una matriz orgánica y representan el contenido total de los minerales de una muestra. La técnica se basa en la incineración de la muestra a 600 °C y la determinación del peso de las cenizas resultantes. Cabe señalar que las muestras de alimento, ingredientes en polvo y tejidos, como músculo, deben de utilizarse en base seca. No es recomendable el uso de esta técnica en tejidos con alto contenido de agua.

Equipo

- Mufia
- Desecador
- Balanza semi-analítica

Materiales

- Crisoles de porcelana
- Pinzas para crisol
- Guantes de látex/nitrilo
- Guantes de carnaza

Consideraciones:

1. Debido a la temperatura en la que se mantienen los crisoles, pueden causar quemaduras severas. Es indispensable del manejo con pinzas y guantes de carnaza.
2. Al usar la mufla, no abrirla con tumor que una temperatura mayor a los 200 °C.
3. Cuando los crisoles estén fríos, se deben utilizar las pinzas.
4. Enumerar los crisoles en la base con lápiz para siguiente ubicación durante la prueba.

Procedimiento

Peso del crisol de porcelana

1. Colocar crisoles de porcelana en la mufla, cerrarla y ajustar la temperatura a 550°C; mantener el crisol por un periodo de 1 hr.
2. Dejar que la temperatura disminuya hasta 150 °C, durante 1:30 hrs aproximadamente.
3. Colocar en un desecador y después dejarlo enfriar y pesar en la balanza semi-analítica.

Muestra

1. Colocar el crisol en la balanza semi-analítica, agregar la muestra y registrar el peso exacto.
2. Introducir el crisol de porcelana con la muestra dentro de una mufla e iniciar el aumento de temperatura hasta los 550 °C; mantenerlo ahí por un periodo de 6 hrs. La muestra calcinada se observa como un polvo blanco.
3. Transcurrido el periodo de calcinación, permitir que se enfríe a menos de 150 °C, durante un periodo aproximado de 1:30 hrs. Sacar el crisol con la muestra utilizando pinzas, cuidando la no volatilidad a la que las cenizas son susceptibles, colocar en un desecador. Dejar enfriar, pesar y registrar el peso.
- 4.

Cálculos

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{PR-PI}{PM} \times 100$$

Dónde: PI= peso inicial crisol

PF= peso final crisol

PM= peso muestra.

Anexo 3 Proteína cruda.

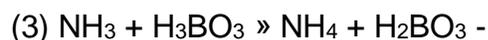
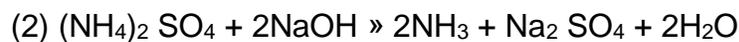
Fundamento

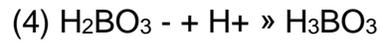
El método de Kjeldahl se basa en la digestión ácida de la muestra, en presencia de un catalizador y alta temperatura. Como resultado de esta reacción, el nitrógeno orgánico se reduce a amoníaco, mismo que es retenido y puede ser determinado por destilación alcalina y una titulación posterior. Para esta prueba se utilizó un equipo de la marca Foss®, que incluye un dije store para 8 tubos, un equipo para extracción de vapores SR210 y un destilador Kjeltex 2100. El conjunto, permite tener un proceso de digestión reproducible. Además, es más seguro para el usuario.

Digestión:



Destilación:



Titulación:**Equipo:**

- Campanas de extracción
- Rack para tubos
- Equipo de extracción de vapores SR210
- Digestor (Tecator digestor)
- Destilador (Kjeltec TM 2100)

Materiales:

- Tubos de digestor 200 mL
- Matraces
- Vaso de precipitados
- Guantes de carnaza
- Guantes de látex/vinil/nitrilo
- Franelas

Reactivos:

- Ácido sulfúrico concentrado
- Tabletas Kjeltabs o mezcla reactiva
- Solución de hidróxido de sodio 40%
- Solución indicadora de ácido bórico
- Agua destilada

Consideraciones:

1. Se debe utilizar guantes, ya que los reactivos utilizados pueden provocar quemaduras severas.
2. Al terminar el ciclo de digestión, se deben tomar los tubos con guantes de carnaza, ya que pueden provocar quemaduras severas.
3. Utilizar mascarilla al manejar los tubos durante el proceso de digestión

Procedimiento**Muestra**

Se recomienda utilizar las muestras en base seca (ingredientes sólidos, alimentos y músculo). Anotar el peso exacto de la muestra.

Digestión

1. Colocar en un tubo la muestra y agregar dos tabletas (keljtabs). En caso de no contar con las tabletas, también es posible utilizar 2 g de una mezcla 9:1 de sulfato de potasio y sulfato de cobre.
2. Agregar 15 minutos de ácido sulfúrico concentrado al tubo. En caso de que la muestra contenga más de 15% de lípidos, es necesario agregar peróxido de hidrógeno concentrado a la muestra. En este caso, se deben utilizar 10 mL de ácido sulfúrico y 10 mL de peróxido de hidrógeno.
3. Colocar el tubo en el digestor e iniciar un ciclo de digestión a 450° C durante una hora. **IMPORTANTE:** durante este paso, es necesario tener cuidado con los gases del ácido sulfúrico que se generan por la digestión. Por ello, es necesario utilizar el sistema de extracción de gases (exhaust), que se coloca sobre los tubos de digestión y estos, a su vez, deben estar conectados a un Scrubber, que además de la extracción de los gases, neutraliza el ácido sulfúrico. Como protección adicional se debe usar la campana de extracción durante todo el proceso de digestión y durante el enfriamiento de los tubos.
4. Al terminar el ciclo, dejar enfriar los tubos para aproximadamente una hora, para evitar que se estrellen por choque térmico.

5. Colocar 25 ML de la solución indicadora de ácido bórico en matraz Erlenmeyer de 250 mL.

Destilación:

1. Antes de iniciar la destilación de las muestras, es necesario hacer una purga del sistema de destilación Kjeltex TM2100, colocando 100 mL de agua destilada en un tubo de digestión limpio, corriendo un ciclo destilación y colectando en un matraz limpio.
2. Una vez que los tubos se han enfriado, se agregan 70 mL de agua destilada a la muestra. El tubo se coloca en el destilador Kjeltex TM1200, y para recolectar el destilado, se utiliza un matraz Erlenmeyer, con una solución indicadora de ácido bórico. Se agregan de 60 ml a 70 mL de NaOH (según lo requiera la muestra) con el dispensador del destilador y se inicia el ciclo de destilación por 5 minutos se extrae el matraz. **IMPORTANTE:** para sacar el tubo se requiere utilizar guantes, pues el tubo estará caliente.
3. Antes de iniciar con una nueva muestra, es necesario hacer un lavado del sistema, por lo que es necesario utilizar un tubo con 200 mL de agua destilada y correr un ciclo de destilado.
4. La solución del destilado en el matraz se titula y con la solución de ácido sulfúrico 0.1 N y el viraje se da un color verde claro y brillante a un verde más oscuro, casi café. Registrar la cantidad de mililitros utilizados para la titulación.

Cálculos

Cómo primer paso se debe calcular el porcentaje de nitrógeno con la fórmula siguiente:

$$N (\%) = \frac{14 \times (V_m - V_b) \times N (H_2SO_4) \times 1.004}{PM \times 10}$$

Dónde: 14 = peso molecular del nitrógeno

V_m = mL usados para titular muestra

V_b = mL y usados para titular blanco, usualmente 0

1.004 = factor constante de la fórmula

PM = peso muestra (g)

El siguiente paso es calcular el porcentaje de proteína, usando un factor de 6.25. este factor se ha calculado por el contenido de nitrógeno proteico en la mayoría de las muestras.

$$Proteína\ cruda (\%) = N (\%) \times 6.25$$

Preparación de reactivos

Digestión

1. Mezcla reactiva. Mezclar sulfato de potasio K_2SO_4 y sulfato de cobre Cu_2SO_4 en una proporción 9:1, respectivamente.
2. Solución de NaOH 10% para el Scrubber. Disolver 100 g de NaOH por litro de agua destilada, con ayuda de un sonicador. Esta solución se utiliza para el equipo de Scrubber y permite neutralizar los humos ácidos que resultan de la digestión de la muestra con el ácido sulfúrico.

Destilación

1. Solución de hidróxido de sodio 40%. Disolver 400 g de hidróxido de sodio (NaOH) en un litro de agua destilada, con ayuda de un sonicador. Esta solución se usa en el sistema de destilación.
2. Solución indicadora de ácido bórico. Disolver 40 g de ácido bórico (H_3BO_3) en 700 mL de agua destilada. Agregar 200 mL de etanol y 17 mL de la solución RM-VB, fuera un litro con agua destilada.
3. Solución RM-VB. Disolver 0.44 g de rojo de metilo en 200 mL de etanol 93%. Aparte, disolver 0.22 g de verde de bromocresol en 100 mL de etanol 93%. Una vez preparadas ambas soluciones se mezclan y se almacenan en un frasco ámbar.

Solución para titulación

Solución de ácido sulfúrico 0.1 N. Disolver 2.7 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) en un litro de agua destilada.

Anexo 4 Lípidos totales

Fundamento

El procedimiento para extracción de lípidos e Blight y Dyer (1959) es una modificación del método de the Floch; utiliza una combinación de cloroformo y metanol para extraer lípidos de una matriz orgánica y emplea una proporción 1:1:0.8 de cloroformo, metanol y agua, con el objetivo de mejorar la extracción de lípidos, aún en muestras pequeñas y con bajo contenido de grasas.

Los lípidos de la matriz se disuelven en una mezcla de cloroformo: metanol y cuando se agrega agua, se forman dos fases: una de cloroformo con los lípidos disueltos y otra de metanol y una de agua. Después de la separación, el cloroformo se elimina por evaporación, quedando exclusivamente lípidos. Para la separación de la mezcla de cloroformo: metanol de la matriz sólida: se utilizó un método de centrifugación.

Equipo

- Homogeneizador
- Balanza analítica
- Sonicador
- Horno de convección

- Centrífuga

Materiales

- Hielo
- Gradilla
- Vaso de precipitados
- Tubos de ensaye de 5 mL
- Frasco vial ámbar de 2 mL
- Pipetas
- Embudo de separación
- Mortero
- Filtros de membrana (\varnothing 25 mm, apertura de poro 0.45 μ m)
- Guantes de látex/nitrilo

Reactivos

- Cloroformo concentrado
- Metanol concentrado
- Agua destilada
- Alcohol 70%

Consideraciones

1. Utilizar todo el tiempo guantes de látex o nitrilo para el manejo de los viales, debido a que la grasa de los dedos puede agregar peso y provocar variaciones en la prueba.
2. Enumerar los viales usando un marcador indeleble para su identificación durante la prueba.
3. Para evitar contaminación, enjuagar el homogeneizador entre muestra y muestra con una mezcla de metanol y cloroformo (1:1).
4. Es importante que los tubos con las muestras se mantengan en un recipiente con hielo durante el proceso de homogeneizado, debido a que las muestras se pueden oxidar con el aumento de la temperatura.

Procedimiento

Lavado

1. Lavar los fieles con una solución de jabón libre de fosfatos.
2. Y poderlos Vélez con agua, después con agua destilada introducir al horno de convección para eliminar la humedad durante 2 h. Pagar una última vez con alcohol al 70% y dejar que se evapore a temperatura ambiente.

Peso de los viales

Pesar en una balanza semi-analítica los viales y registrar el peso.

Muestra

1. Las muestras fueron utilizadas en base húmeda o seca, pero se recomienda que muestras, alimento y músculos se utilizan en base seca. Tejido con alto contenido de agua (hígado o intestino) deben utilizarse en base húmeda. Si la muestra a determinar (pellet/muestras de tejido) es difícil de homogeneizar, se puede pulverizar previamente, para facilitar la extracción.
2. En un tubo de ensaye, colocar entre 0.1 g y 1 g de muestra.
3. Agrega el tubo 1.5 mL de cloroformo en 3 mL de metanol; homogeneizar por dos minutos. Agregar 1.5 mL de cloroformo y homogeneizar por 2 minutos más.
4. Posteriormente y dependiendo de la disponibilidad del equipo de material se puede emplear el método de centrifugación para la separación de la matriz sólida de la mezcla de metanol y cloroformo.
5. Centrifugar los tubos con las muestras a 5,000 rpm durante 5 min. Tomar cuidadosamente el sobrenadante con la pipeta (evitar al máximo tomar el material residual de la matriz sólida, ya que eso aumentará el peso) y colocarlo en el embudo de separación cerrado.

6. Ver 0.8 mL de agua destilada para mantener una proporción 1:1:0.8 de cloroformo, metanol y agua.
7. Agitar vigorosamente y dejar reposar unos segundos para que se formen dos fases. En caso de que estas no se formen, agregar agua destilada por gotas. Cuando las cosas no son cristalinas, es posible que requiera metanol, el cual debe agregarse gota a gota.
8. Verter en el fresco vial la fase más densa, que corresponde a la fase inferior del embudo.
9. El cloroformo se evapora usando preferentemente una corriente continua de nitrógeno. En caso de no contar con nitrógeno se puede acceder al aire. Cuando se aprecia una capa amarillenta en el fondo del vial, la muestra estará lista. En caso de que se aprecie en la muestra (puede suceder por dejar pasar la fase de agua y metanol en el embudo de separación) basta con agregar un poco de etanol, agitar el vial y colocarlo de nuevo en la corriente de nitrógeno o aire.
10. Pesar el vial en una balanza semi-analítica y registrar.

Cálculos

$$\text{Lípidos totales} = \frac{PL}{PM} \times 100$$

Dónde PL= peso lípidos (peso vial final- peso vial inicial)

PM= peso muestra.