



**Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.**  
Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental

**“Efecto de la inclusión de aceite de canola en el alimento sobre el crecimiento y composición de ácidos grasos omega-3 del músculo de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869)”**

Por:

Mauricio Eduardo Escalante Rojas

Tesis aprobada por:

**UNIDAD MAZATLÁN EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL**

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Mazatlán, Sinaloa.

Diciembre de 2010

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

Se permite citas breves sin permiso especial del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Se podrá solicitar al Director del Centro o Jefe de Área correspondiente del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. apartado postal 1735, Hermosillo, Sonora CP 83000 México, para citas o consultas más completas con fines académicos. En otras circunstancias, se deberá solicitar permiso del autor.

La publicación en comunidades científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa aprobación escrita del director.

---

Dr. Ramón Pacheco Aguilar  
Director General

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Mauricio Eduardo Escalante Rojas la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Acuicultura.



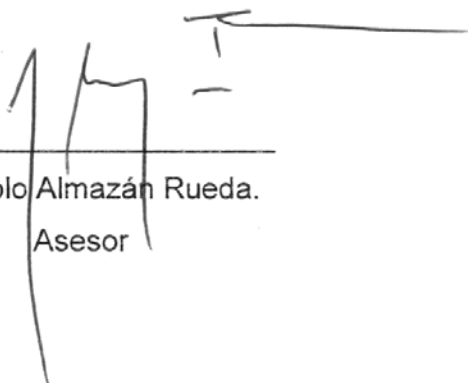
Dr. Armando García Ortega

Director de Tesis



Dra. Ma. Dolores Muy Rangel.

Asesor



Dr. Pablo Almazán Rueda.

Asesor

M. en C. Ana C. Puello Cruz.

Asesor

## DEDICATORIA

### **A mis padres:**

Eduardo Escalante

Isabel Rojas

### **A mis hermanas:**

Isabel

Mónica

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Unidad Mazatlán, por permitirme cursar el programa de Maestría.

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (CECyT) por el apoyo económico otorgado para la finalización del trabajo de tesis.

Al Dr. Armando García Ortega, agradezco su dirección, paciencia y sus valiosos consejos.

A mi comité de Tesis, conformado por la Dra. Maria Dolores Muy, el Dr. Pablo Almazan Rueda y la M.C. Ana Puello Cruz, muchas gracias por su ayuda y sus valiosas sugerencias.

A la M. C. Blanca González Rodríguez por el apoyo en la realización los análisis proximales.

Al Laboratorio de Nutrición del CIAD Unidad Culiacán, por brindarme todo el apoyo necesario para la realización de los análisis de ácidos grasos, especialmente a la M.C. Verónica Pérez y al M.C. Eduardo Sánchez. También quiero agradecer al Q.F.B. Pedro Bastidas, a la M.C. Rosabel Vélez y a la M.C. Edith Salazar por el apoyo técnico otorgado.

Al Ing. Alberto Durán Niebla por el apoyo técnico otorgado en el centro de cómputo.

Al M.C. Belisario Leyva, por darme hospedaje durante mi estancia en Culiacán.

A Rosa Cabrera y Rocío Quezada, por su invaluable ayuda al inicio de mi experimento. También a Felipe Rodríguez y Yeni Villa, tanto por su apoyo técnico como por su amistad.

A mis amigos y compañeros, Martha Dorantes, Ulises Alcaraz, Héctor Canseco, Martha Palomec, Cecilia Bastidas y Marco Beltrán.

A Kattia Preciado, por siempre darme su ayuda y su amistad.

El trabajo de investigación en esta tesis no fue financiado con proyectos CONACYT o de alguna otra fuente Estatal o Sectorial. El financiamiento fue provisto por ingresos propios del Dr. García Ortega.

## CONTENIDO

	Página
<b>DEDICATORIA</b> .....	4
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	5
<b>CONTENIDO</b> .....	7
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	10
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	12
<b>RESUMEN</b> .....	13
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	14
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	19
2.1 Generalidades del Organismo de Estudio .....	19
2.1.1 Clasificación taxonómica .....	19
2.1.2 Distribución y Hábitat .....	19
2.1.3 Biología .....	20
2.1.4 Estudios sobre cultivo y nutrición de pargo <i>Lutjanus guttatus</i> .....	21
2.2 Lípidos y su Importancia en Acuicultura .....	22
2.3 Lípidos y Ácidos Grasos .....	25
2.3.1 Estructura química de los ácidos grasos .....	25
2.3.2 Funciones e importancia de los ácidos grasos .....	28
2.3.3 Ácidos grasos esenciales en peces y biosíntesis de ácidos grasos insaturados .....	31
2.4 Reemplazo de Aceite de Pescado por Aceites Vegetales en Dietas para Peces y su Efecto en Crecimiento .....	34

2.5	Estudios Sobre Dietas de Finalización en Peces en Cultivo .....	38
<b>III.</b>	<b>HIPOTESIS .....</b>	<b>43</b>
<b>IV.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>44</b>
4.1	Objetivo General.....	44
4.2	Objetivos Particulares .....	44
<b>V.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
5.1	Dietas experimentales .....	45
5.1.1	Formulación de las dietas .....	45
5.1.2	Elaboración de las dietas .....	47
5.2	Análisis Proximal .....	48
5.3	Perfil de Ácidos Grasos .....	49
5.4	Determinación Calorimétrica.....	51
5.5	Sistema experimental .....	51
5.5.1	Generalidades de los tanques.....	51
5.5.2	Parámetros ambientales .....	53
5.6	Organismos de Estudio.....	53
5.6.1	Procedencia .....	53
5.6.2	Alimentación de los peces.....	54
5.7	Evaluación del Crecimiento y Supervivencia .....	54
5.7.1	Biometrías .....	54
5.7.2	Parámetros de crecimiento y utilización del alimento.....	55
5.7	Análisis Estadísticos .....	57
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>58</b>
6.1	Análisis de Composición Proximal de las Dietas Experimentales.....	58
6.2	Perfil de Ácidos Grasos de las Dietas Experimentales .....	59



6.3	Análisis de Composición Proximal de los Peces .....	63
6.4	Parámetros de Crecimiento y Eficiencia del Alimento durante la Primera Fase del Estudio.....	66
6.5	Parámetros de Crecimiento y Eficiencia del Alimento de la Segunda Fase del Estudio.....	72
6.6	Efecto del Aceite de Canola en el Perfil de Ácidos Grasos del Músculo del Pargo Lunarejo .....	74
6.7	Efecto de la Dieta de Finalización sobre el Perfil de Ácidos grasos del músculo del pargo lunarejo.....	81
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>90</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>92</b>
<b>IX.</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO I</b>	<b>.....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXO II</b>	<b>.....</b>	<b>110</b>
<b>ANEXO III</b>	<b>.....</b>	<b>112</b>

## INDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Producción mundial del aceite de pescado y el aceite de canola. ....	16
<b>Figura 2.</b> Precio en dólares por tonelada del aceite de pescado y del aceite de canola. ....	17
<b>Figura 3.</b> Ejemplar de pargo <i>Lutjanus guttatus</i> . ....	20
<b>Figura 4.</b> Estructura química general de los ácidos grasos. ....	26
<b>Figura 5.</b> Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA). ....	27
<b>Figura 6.</b> Estructura química del ácido eicosapentaenoico (EPA). ....	27
<b>Figura 7.</b> Esquema simple sobre la biosíntesis de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. ....	32
<b>Figura 8.</b> Influencia de la fuente de lípidos en dieta sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de la trucha ....	39
<b>Figura 9.</b> Elaboración de las dietas. ....	48
<b>Figura 10.</b> Tanques de fibra de vidrio de 600 litros utilizados durante la primera fase del experimento. ....	52
<b>Figura 11.</b> Tanques de fibra de vidrio de 3000 litros utilizados durante la segunda fase del experimento. ....	53
<b>Figura 12.</b> Manipulación de los peces durante las biometrías. ....	55
<b>Figura 13.</b> Influencia del aceite de canola en dieta sobre el perfil de ácidos grasos del músculo del pargo lunarejo. ....	80
<b>Figura 14.</b> Contenido de ácido oleico (18:1n-9) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	83
<b>Figura 15.</b> Contenido de ácido linoleico (18:2n-6) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	84
<b>Figura 16.</b> Contenido de ácido linolénico (18:3n-3) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	85

<b>Figura 17.</b> Contenido de ácido araquidónico (20:4n-6) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	86
<b>Figura 18.</b> Contenido de ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	87
<b>Figura 19.</b> Contenido de ácido docosahexaenoico (22:6n-3) en el músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. ....	88

## INDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del pargo <i>Lutjanus guttatus</i> .....	19
<b>Tabla 2.</b> Composición de ácidos grasos típica de aceites de pescado.....	23
<b>Tabla 3.</b> Ácidos grasos con sus fórmulas simples y sus nombres comunes ....	28
<b>Tabla 4.</b> Capacidad de bioconversión del 18:3n-3.....	33
<b>Tabla 5.</b> Formulación de las dietas experimentales.....	46
<b>Tabla 6.</b> Composición proximal de los ingredientes utilizados en la elaboración de las dietas experimentales. ....	47
<b>Tabla 7.</b> Composición proximal y contenido energético de las dietas experimentales. ....	58
<b>Tabla 8.</b> Perfil de ácidos grasos de los ingredientes utilizados en la elaboración de las dietas. ....	60
<b>Tabla 9.</b> Perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales .....	62
<b>Tabla 10.</b> Composición proximal de los peces alimentados con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de canola. ....	63
<b>Tabla 11.</b> Composición proximal de los peces después de la dieta de finalización.....	66
<b>Tabla 12.</b> Parámetros de crecimiento, eficiencia del alimento, índice hepatosomático y supervivencia de los peces al final de la primera fase del estudio.....	68
<b>Tabla 13.</b> Parámetros de crecimiento, eficiencia del alimento, índice hepatosomático y supervivencia de los peces al final de la segunda fase del estudio.....	73
<b>Tabla 14.</b> Perfil de ácidos grasos del músculo de pargo <i>L. guttatus</i> alimentado con diferentes niveles de aceite de canola.....	76
<b>Tabla 15.</b> Perfil de ácidos grasos del músculo de los peces después de la dieta de finalización.....	82
<b>Tabla 16.</b> Concentración de EPA y DHA (mg/100 g de filete) en el filete de los pargos durante las dos fases de alimentación.....	89

## RESUMEN

Actualmente el pescado es considerado la principal fuente de ácidos grasos omega-3, los cuales proporcionan una serie de beneficios a la salud, por lo que se recomienda su ingesta en cantidades relativamente altas. En los últimos años, ha ocurrido una disminución en la producción de pesca por captura, mientras que la producción por acuicultura ha crecido drásticamente, proporcionando alrededor del 50% del suministro mundial de pescado en el 2009. Uno de los principales insumos en las dietas de peces en cultivo es el aceite de pescado, ya que es un ingrediente clave para proporcionar ácidos grasos omega-3 a los peces en cultivo, y este insumo, al ser un derivado de la pesca, su precio y disponibilidad están sujetos a los cambios que hay en la producción de pesca por captura. Esto ha forzado a la acuicultura a buscar fuentes alternativas al aceite de pescado, tales como los aceites vegetales. En nuestra región, el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, es un pez carnívoro de importancia pesquera, en los últimos años se ha reportado una disminución en sus capturas, y cada vez existe más interés en su cultivo ya que ha demostrado adaptarse bien a las condiciones de cultivo. Pero al igual que con otras especies, es necesario contar con ingredientes costeables y disponibles para asegurar la sustentabilidad del cultivo a largo plazo. En el presente estudio se evaluó el efecto de la sustitución del aceite de pescado en la dieta por aceite de canola sobre el crecimiento y perfil de ácidos grasos del pargo lunarejo. Para esto se diseñó un experimento que se dividió en 2 fases, la primera consistió en probar diferentes niveles de aceite de canola (0, 25, 50 y 100%) en sustitución del aceite de pescado. La segunda fase consistió en probar una dieta de finalización, alimentando a todos los grupos con una dieta con aceite de pescado como única fuente de lípidos, esto como estrategia para la recuperación de los ácidos grasos omega-3. El peso inicial de los organismos fue de  $76.9 \pm 1.7$  gramos, los cuales fueron alimentados 2 veces al día. Al terminar la primera fase, los peces alimentados con el tratamiento 100% Canola presentaron el peso final más bajo, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. El factor de conversión alimenticia se mantuvo entre 2 y 2.4 sin diferencias significativas entre grupos. En cuanto al perfil de ácidos grasos del músculo, se observó un aumento de ácidos grasos omega-6 y una disminución de omega-3 conforme se incrementó la concentración de aceite de canola en dieta. Los peces alimentados con la dieta 100% canola mostraron las concentraciones más bajas de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. En lo que respecta a la segunda fase, el perfil de ácidos grasos del músculo mostró cambios muy notables, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico, sin embargo, las concentraciones de ácido linoleico y de ácido linolénico aún se mantuvieron altas, especialmente en el grupo previamente alimentado con la dieta 100% canola.

## I. INTRODUCCIÓN

El pescado es considerado una de las mejores fuentes de ácidos grasos altamente insaturados, especialmente los de la serie omega-3. Los nutriólogos recomiendan una alta ingesta de estos ácidos grasos, a expensas de los ácidos grasos de la serie omega-6, por tal razón, la demanda de pescado sigue aumentando, sobre todo en países desarrollados (Jobling 2004). Las capturas de pescado a nivel mundial se han mantenido estables desde la década de 1980, mientras que la producción mundial de peces y otros organismos acuáticos por acuicultura sigue creciendo, siendo su contribución al suministro mundial del 47% en 2009 (FAO, 2009). Además ha tenido una tasa de crecimiento promedio del 8% por año desde 1970, mientras que el crecimiento de las pesquerías por captura ha sido solo del 1.2%. Por lo tanto, la demanda de pescado deberá ser cubierta por la acuicultura en los próximos años (Pickova y Morkore, 2007 FAO, 2009).

La acuicultura ha hecho uso de alimentos formulados para mantener tal tasa de crecimiento, esto ha ocasionado un desarrollo de la misma magnitud en la industria de los alimentos acuícolas. Históricamente, los principales ingredientes para la manufactura de alimentos acuícolas han sido la harina y el aceite de pescado (Tacon y Metian, 2008). En nutrición de peces, los lípidos juegan un papel muy importante, ya que son la principal fuente de energía.

Existe una tendencia a usar dietas con alto contenido de lípidos, tanto como para lograr crecimiento más rápido, ahorro de proteína y reducción de nitrógeno en las descargas (Izquierdo *et al.*, 2003; Guillaume *et al.*, 2004). Dentro de este contexto, el aceite de pescado ha sido la principal fuente de lípidos en alimentos acuícolas; por su aporte de ácidos grasos es rico en ácidos grasos omega-3 insaturados (Sargent *et al.*, 1989; Watanabe, 2002; Turchini *et al.*, 2009), específicamente el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) y ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA), estos son esenciales en la dieta de los

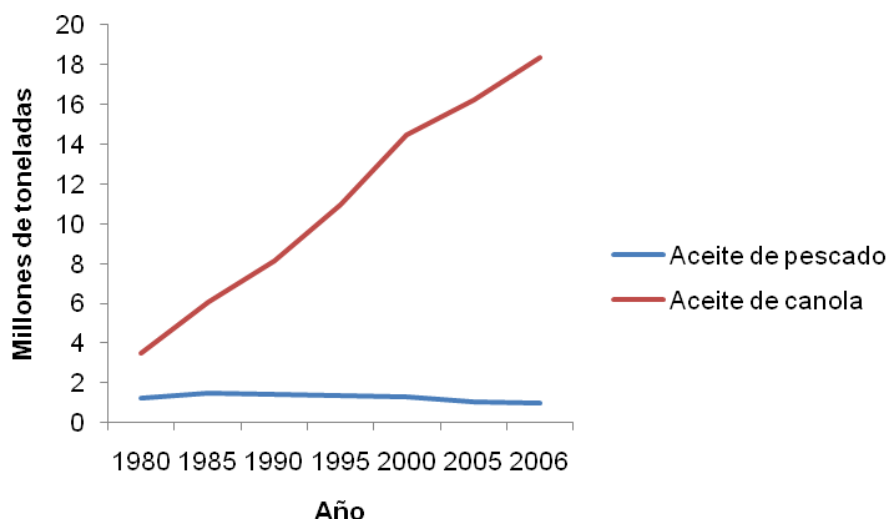
peces, dado que carecen de las enzimas necesarias para sintetizarlos (Sargent *et al.* 1995). Por tal razón, el aceite de pescado es considerado como la fuente ideal de lípidos para la fabricación de alimentos acuícolas. Sin embargo, existe cierta problemática, ya que el aceite de pescado es un producto de la pesca, y la pesca al estar prácticamente al límite, no podrá satisfacer la demanda de aceite de pescado para la creciente industria acuícola, lo que a su vez elevará en gran medida el precio del aceite. En adición, la producción mundial de aceite de pescado se ve afectada por factores climáticos como el fenómeno del Niño que afecta las pesquerías de Chile y Perú, añadiendo aún más incertidumbre sobre la disponibilidad y el costo de este insumo. Por lo tanto, existe una urgencia por encontrar ingredientes alternativos al aceite de pescado que sean disponibles y costeables para que satisfagan la demanda de la acuicultura, sin comprometer la sustentabilidad de ésta, tal es el caso de los aceites vegetales (Sargent *et al.* 1995; Watanabe, 2002; Mourente, 2005; Drew *et al.* 2007; Huang *et al.* 2007; Huang *et al.* 2008; Tacon y Metian, 2008).

Los aceites vegetales a diferencia del aceite de pescado son menos costosos y son altamente disponibles. La producción mundial de aceites vegetales es alrededor de 100 veces mayor a la del aceite de pescado (FAO, 2010). De acuerdo con Opsahl-Ferstad *et al.*, (2003), lo más deseable en un aceite vegetal para el uso en alimentos acuícolas es tener un perfil de ácidos grasos con bajo contenido de ácido linoleico (18:2n-6), alto contenido de ácido oleico (18:1n-9) y una concentración moderada de ácido linolénico (18:3n-3), el aceite de canola es el que mejor se adapta a estos criterios, aunque puede tener una concentración relativamente alta de 18:2n-6.

La canola es una semilla oleaginosa proveniente de 2 variedades de colza, *Brassica napus* y *Brassica rapa (campestris)*. La transformación de colza a canola, es el resultado de la manipulación genética a través de técnicas tradicionales, para lograr un bajo contenido de ácido erúxico y glucosinolatos, los cuales son conocidos como factores antinutricionales que afectan la función tiroidea. En 1979, la industria de la colza en Canadá, adoptó el nombre de

canola para describir a las variedades de colza cuyas semillas contengan menos del 2% de ácido erúxico en el aceite, y menos de 30  $\mu$ moles de glucosinolatos por gramo de harina seca libre de aceite, logrando así un producto con características nutricionales superiores a las de las variedades naturales de colza (Eskin y McDonald, 1991). El aceite de canola es rico en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), principalmente en ácido linoleico (18:2n-6) y ácido linolénico (18:3n-3), pero como todos los aceites de origen vegetal, carece de EPA y DHA (Turchini *et al.*, 2009).

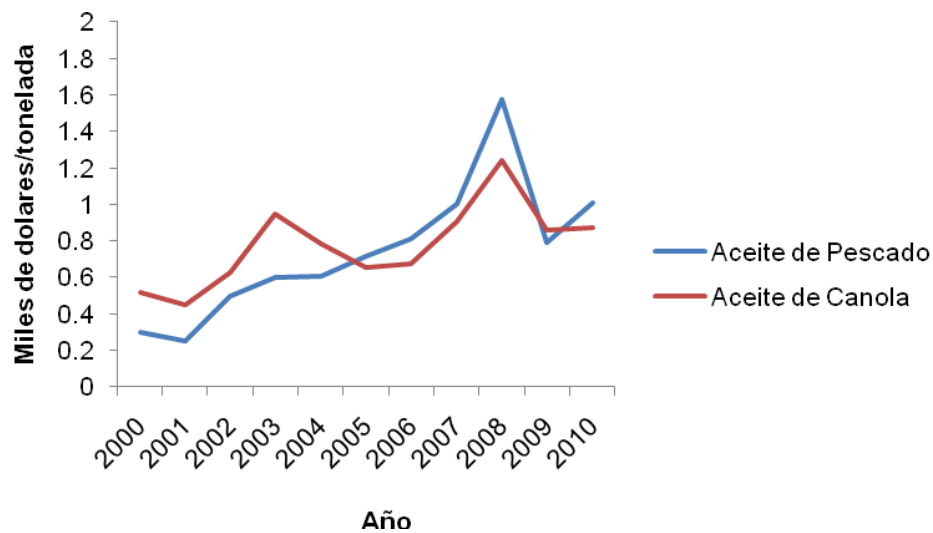
El aceite de canola tiene un gran potencial para sustituir al aceite de pescado en la manufactura de alimentos acuícolas. Su volumen de producción es alrededor de 20 veces mayor que el del aceite de pescado (Turchini *et al.*, 2009), en la Figura 1 se presenta la producción del aceite de canola y pescado, donde es posible apreciar que la producción del aceite de pescado se ha mantenido prácticamente estática, e incluso se puede apreciar una pequeña tendencia a disminuir, mientras que la producción del aceite de canola ha tenido un aumento dramático.



**Figura 1.** Producción mundial del aceite de pescado y el aceite de canola (Datos tomados de Turchini *et al.*, 2009).



Además de la producción del aceite de canola es mayor sobre la de aceite de pescado, en los últimos 5 años el aceite de canola ha mantenido un precio más bajo y más estable comparación del aceite de pescado como se presenta en la Figura 2.



**Figura 2.** Precio en dólares por tonelada del aceite de pescado y del aceite de canola (Datos tomados de Turchini *et al.*, 2009; Canola Council of Canada, 2010).

El aceite de canola tiene gran potencial para ser utilizado en la fabricación de dietas acuícolas, dado que se ha observado que la sustitución del aceite de pescado por concentraciones altas de aceite de canola no afecta el crecimiento de los peces, pero si se ocasiona una reducción considerable en el contenido de ácidos grasos omega-3 altamente insaturados. Esto no es deseable, ya que aparte de ser un parámetro de calidad, existe gran evidencia de que los ácidos omega-3 además de ser esenciales para los humanos, proporcionan una gran cantidad de beneficios a la salud, ya sea como agentes auxiliares o preventivos de una gran cantidad de padecimientos de carácter inflamatorio (Kris-Etherton *et al.*, 2002; Izquierdo *et al.*, 2005; Turchini *et al.*, 2009).

Una estrategia para contrarrestar este problema es el uso de dietas de finalización o de restauración, las cuales permiten recuperar los niveles de ácidos grasos omega-3 a niveles aceptables (Glencross *et al.*, 2003b; Jobling, 2004; Izquierdo *et al.*, 2005). Este procedimiento consiste en engordar a los peces en cultivo con aceites de origen vegetal, pero unos meses previos a la cosecha se utilizan alimentos con aceite de pescado, de tal manera que se recuperen los ácidos grasos omega-3 a niveles aceptables.

En nuestra región, el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) es un pez marino carnívoro que habita en el Océano Pacífico desde México hasta Perú (Allen, 1985). Es un producto pesquero que llega a alcanzar buenos precios en el mercado, hasta 7 US\$/kg (García-Ortega, 2009), dado que tiene buena demanda por su exquisito sabor. En los últimos años se ha reportado una disminución en su captura, y esto se atribuye principalmente a que su pesca no está controlada (Amezcuca *et al.*, 2006). Existe un interés cada vez mayor por el cultivo de esta especie, ya que se adapta a las condiciones de cultivo, se conocen sus requerimientos nutricionales (García-Ortega 2009), es posible su reproducción en cautiverio (Ibarra-Castro y Duncan, 2009). Además recientemente se logró una pigmentación más atractiva en la piel de los pargos bajo condiciones de cultivo con el uso de astaxantina en el alimento (Rodríguez-Moreno, 2009). Pero al igual que con otras especies de peces, y especialmente carnívoros, es importante contar con alternativas al aceite de pescado para el cultivo de pargo *L. guttatus*, esto para lograr una disminución en los costos de producción y asegurar la sustentabilidad del cultivo a largo plazo, pero sin dejar a un lado la calidad del producto final.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades del Organismo de Estudio

#### 2.1.1 Clasificación taxonómica

El pargo lunarejo o pargo flamenco pertenece a la familia Lutjanidae, la cual se compone por 37 géneros y 103 especies. En la Tabla 1 se presenta la clasificación taxonómica del pargo *L. guttatus* (Steindachner, 1869) de acuerdo a Allen (1985).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*.

Reino	Animal
Phyllum	Vertebrata
Clase	Osteichthyes
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Lutjanidae
Género	<i>Lutjanus</i>
Especie	<i>guttatus</i>

#### 2.1.2 Distribución y Hábitat

El pargo *L. guttatus* (Steindachner, 1869) habita en el Océano Pacífico, y su distribución geográfica se extiende desde el Golfo de California en México, hasta Perú. Es una especie demersal, que habita en arrecifes costeros, hasta

unos 30 m de profundidad, generalmente se encuentra solitario o formando pequeños grupos, pero de manera ocasional pueden encontrarse grandes cardúmenes; los juveniles habitan en sistemas costeros (Allen, 1985).

A lo largo de esta región se le conoce con diferentes nombres, como pargo lunarejo, pargo manchado, pargo de la mancha, pargo flamenco, pargo seda, entre otros (Allen, 1985).

### 2.1.3 Biología

El pargo lunarejo *L. guttatus* (Figura 3) presenta una coloración rosa-rojiza, posee rayas irregulares color amarillo y azul a lo largo del cuerpo, estas últimas principalmente en la cabeza; tiene aletas color rojo a excepción de las pélvicas y anal, las cuales presentan un color amarillo-dorado. Una característica que destaca, es que esta especie posee una mancha o lunar color negro en ambos costados (Allen, 1985).



**Figura 3.** Ejemplar de pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*.

Es un pez carnívoro, se alimenta principalmente de crustáceos como camarón, cangrejo y jaiba, así como de moluscos y otros peces (Rojas *et al.*, 2004). En lo que respecta a su reproducción, esta especie mantiene una actividad reproductiva durante todo el año, pero presenta dos picos principales (marzo-

abril y agosto-noviembre), donde los peces presentan un gran porcentaje de gónadas maduras o en desove (Arellano-Martínez *et al.*, 2001).

#### **2.1.4 Estudios sobre cultivo y nutrición de pargo *Lutjanus guttatus***

Aunque el cultivo del pargo lunarejo *L. guttatus* es una actividad muy reciente, ya se cuenta con diversos estudios sobre su cultivo.

En cuanto a condiciones de cultivo, Castillo-Vagasmachuca *et al.* (2007) reportan que es posible la engorda de pargos juveniles de 110 g en jaulas flotantes utilizando una densidad de 1.2 kg/m<sup>3</sup>, logrando una tasa de crecimiento específico de 1.0 % por día y un factor de conversión alimenticia de 1.9. También existen trabajos respecto a la reproducción en cautiverio, Ibarra-Castro y Duncan (2007) recomiendan una dosis de 240-280 µg/kg de hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH $\alpha$ ) para lograr el desove en pargos adultos recién capturados. Por otro lado, Boza-Abarca *et al.* (2008) utilizaron Gonadotropina Coriónica Humana para inducir el desove de pargos criados en cautiverio, logrando una fertilización de huevos del 90%.

Uno de los principales cuellos de botella del cultivo de peces marinos, es la obtención de larvas de alta calidad, ya que esta etapa del desarrollo de los peces marinos es la más crítica de todas, por tal razón es fundamental proporcionar todas las condiciones y nutrientes necesarios para lograr un desarrollo adecuado. En este contexto, se han desarrollado protocolos para la alimentación de larvas de *L. guttatus*, los cuales consisten en el uso de alimento vivo (microalgas, rotíferos, copépodos y *Artemia*) y microdietas artificiales (García-Ortega *et al.*, 2005). Por otra parte, en la engorda de peces mayores de 100 g, García-Ortega (2009) reportó un requerimiento de proteína del 40% y un requerimiento de lípidos del 11%.

También se determinó el requerimiento de vitamina C en la dieta de pargos juveniles *L. guttatus* bajo condiciones de cultivo, de acuerdo a Osuna-Durán (2009) este es de 47 mg/kg de alimento. Rodríguez-Moreno (2009) recomienda la adición de astaxantina sintética en alimento de pargos en cultivo a una concentración entre 50-100 mg/kg de alimento, esto para lograr una pigmentación rojiza en la piel, más atractiva para el consumidor.

## 2.2 Lípidos y su Importancia en Acuicultura

Como se mencionó previamente, la acuicultura es la actividad de producción de proteína de animal con mayor crecimiento en el mundo. Y se espera que dicha producción continúe creciendo para satisfacer la demanda de la población humana así como para compensar el déficit en las pesquerías por captura. A su vez, esto ha ocasionado un desarrollo de la misma magnitud en la producción de dietas formuladas para los organismos en cultivo (Ng, 2002; Pickova y Morkore, 2007; FAO, 2009).

Las dietas formuladas artificialmente han jugado un papel crucial al sostener la continua expansión de la acuicultura. Una parte fundamental en la formulación de alimentos acuícolas han sido los lípidos. Los lípidos, son el principal suministro de energía para los peces, especialmente los de agua salada, ya que en el medio ambiente marino, la presencia de carbohidratos es muy baja, de tal manera que los peces se han adaptado a dietas altas en lípidos (Sargent *et al.*, 1989; Glencross, 2009). Además de ser suministro de energía, los lípidos proveen de ácidos grasos esenciales para el correcto funcionamiento y desarrollo de los organismos acuáticos.

Existe cierta tendencia en utilizar alimentos con alto contenido de grasa, también llamados alimentos ecológicos, esto porque numerosos experimentos han demostrado que las dietas ricas en grasa mejoran el crecimiento y la eficiencia alimentaria, teniendo un efecto de ahorro de proteína y por lo tanto

contribuyendo a la reducción de desechos de N<sub>2</sub> al medio ambiente (Izquierdo *et al.*, 2003; Guillaume *et al.*, 2004). En este contexto, el aceite de pescado ha sido un ingrediente clave en la manufactura de alimentos acuícolas.

El perfil de ácidos grasos del aceite de pescado, lo hacen la fuente ideal de lípidos para la fabricación de dietas para el cultivo de peces marinos. En la Tabla 2 se presenta la composición típica de ácidos grasos de algunos aceites de pescado. Como se puede observar, a pesar de que estos aceites presentan diferencias notables en la concentración de los diferentes ácidos grasos, todos contienen niveles elevados de HUFA omega-3.

**Tabla 2.** Composición de ácidos grasos típica de algunos aceites de pescado. Fuente: Turchini *et al.*, (2009).

% del total de ácidos grasos	Tipo de aceite				
	Anchoveta	Capelán	Menhaden	Arenque	Hígado de Bacalao
SFA	28.8	20	30.5	20	19.4
MUFA	24.9	61.7	24.8	56.4	46
Linoleico	1.2	1.7	1.3	1.1	1.4
Araquidónico	0.1	0.1	0.2	0.3	1.6
Linolénico	0.8	0.4	0.3	0.6	0.6
EPA	17	4.6	11	8.4	11.2
DHA	8.8	3	9.1	4.9	12.6
n-6 PUFA	1.3	1.8	1.5	1.4	3
n-3 PUFA	31.2	12.2	25.1	17.8	27
n-3/n-6	24	6.8	16.7	12.7	9

Existe una relación muy estrecha entre el perfil de ácidos grasos encontrados en la dieta y el perfil de ácidos grasos de los tejidos de los peces, ya que como

se explicó previamente, los peces marinos tienen una capacidad muy limitada de sintetizar ácidos grasos insaturados, en consecuencia, la composición de los ácidos grasos altamente insaturados en los tejidos de los peces dependerá prácticamente de la dieta. En adición, cuanto más elevado sea el contenido de lípidos en la dieta, más lenta será la síntesis *de novo* de los ácidos grasos y tendrá lugar el depósito de ácidos grasos de origen exógeno. En otras palabras, los tejidos de los peces alimentados con dietas ricas en aceite de pescado tendrán un perfil muy rico en ácidos grasos omega-3 (Guillaume *et al.*, 2004).

Sin embargo, como se explicó al inicio del presente estudio, la disponibilidad del aceite de pescado a largo plazo no es segura debido a que las pesquerías por captura, se encuentran al máximo. En adición, está prevista una mayor demanda de fuentes de lípidos por parte de la acuicultura, lo que ocasionará un aumento en el costo del aceite del pescado (Tacon y Metian, 2008). La manera de contrarrestar este problema, es mediante el reemplazo del aceite de pescado por aceites de origen vegetal, tales como el aceite de canola, soya, palma, entre otros. Los aceites vegetales son mucho más disponibles y más baratos que el aceite de pescado, pero estos no contienen HUFA omega-3 (Turchini *et al.*, 2009).

Las dietas deficientes en ácidos grasos esenciales pueden traer consigo una ralentización en el crecimiento y una disminución de la deficiencia alimentaria en los peces. Al cabo de cierto tiempo, pueden aparecer signos patológicos, tales como la degeneración del hígado, erosión de las aletas, lesiones branquiales o disminución de la hemoglobina (Guillaume *et al.*, 2004). Sin embargo, numerosos estudios respecto al uso de aceites vegetales en dietas acuícolas, señalan que la sustitución del aceite de pescado en altas proporciones, e incluso total, no tiene efectos negativos en el crecimiento de los peces en cultivo.



## 2.3 Lípidos y Ácidos Grasos

Los lípidos son un grupo de compuestos muy diversos los cuales comparten la propiedad de ser insolubles en agua. Sus propiedades biológicas son tan diversas como su química. Las grasas y los aceites son la principal forma de almacenamiento de energía. Algunos lípidos, como los fosfolípidos, son constituyentes mayoritarios de membranas biológicas. Otros lípidos, aunque presentes en menor cantidad, juegan un papel crucial como cofactores, acarreadores de electrones, pigmentos, agentes emulsificantes, hormonas y mensajeros intracelulares (Lehninger *et al.*, 2005).

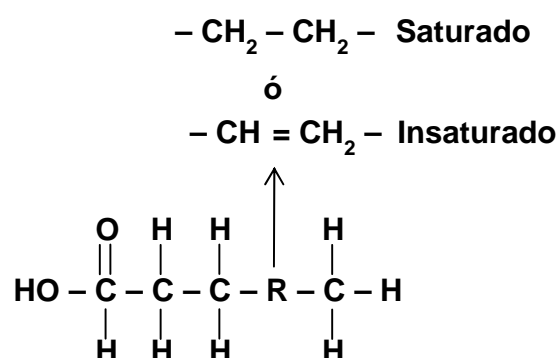
Los lípidos que se encuentran con mayor frecuencia en los organismos vivos son los acilglicéridos y los céridos (ésteres de ceras). Los acilglicéridos representan la mayor parte de los lípidos de almacenamiento de energía tanto en plantas como en animales, y ellos forman la mayor parte de los lípidos neutrales. Los lípidos neutrales se forman de la esterificación de los ácidos grasos con el glicerol. Mientras que los triacilgliceroles o triglicéridos, forman la mayor parte de los lípidos neutrales, también existen los mono- y diacilglicéridos. Los céridos se encuentran en plantas e insectos como agentes hidrofóbicos, pero también actúan como reserva de energía en una gran cantidad de crustáceos, de tal manera que llegan a ser una fuente de energía para varias especies de peces (Jobling, 1994).

### 2.3.1 Estructura química de los ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos con cadenas de átomos de carbono que van desde 4 hasta 36 ( $C_4$  a  $C_{36}$ ). En algunos casos la cadena no tiene ramificaciones y está completamente saturada, en otros la cadena contiene uno o más dobles enlaces (Lehninger *et al.*, 2005). En la Figura 4 se muestra la

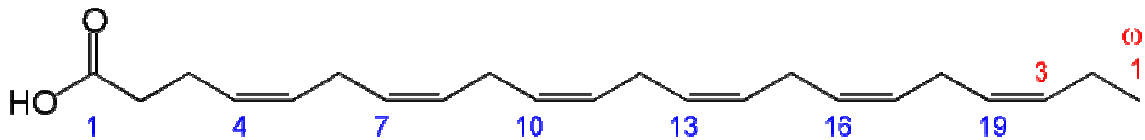
estructura química general de un ácido graso. Además del número de átomos carbonos, el número de dobles enlaces en la cadena es también de importancia. Entre más dobles enlaces tiene la cadena, más insaturado es el ácido graso. De acuerdo al número de dobles enlaces o insaturaciones que poseen los ácidos grasos, Glencross (2009) menciona la siguiente clasificación:

- Ácidos grasos saturados (SFA, por sus siglas en inglés, Saturated Fatty Acids), los cuales no poseen ningún doble enlace, por ejemplo, el ácido estearico.
- Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, por sus siglas en inglés, Monounsaturated Fatty Acids), con un doble enlace en la cadena, por ejemplo, el ácido oleico.
- Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés, Polyunsaturated Fatty Acids), con 2 o más dobles enlaces, como el ácido linolénico.
- Ácidos grasos altamente insaturados (HUFA, por sus siglas en inglés, Highly Unsaturated Fatty Acids), los cuales poseen más de 3 dobles enlaces en su cadena. También conocidos como LcPUFA (Long chain Polyunsaturated Fatty Acids) haciendo referencia a que poseen cadenas de 20 o más átomos de carbono.



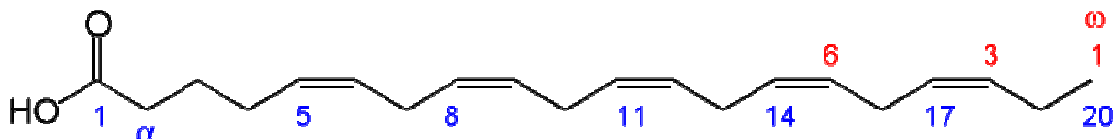
**Figura 4.** Estructura química general de los ácidos grasos.

Existen distintas series de ácidos grasos de acuerdo a donde se encuentra el primer doble enlace. Si el primer doble enlace empieza en el tercer carbono desde el final de la cadena, se llama omega-3, si está en el sexto carbono se llama omega-6 y si está en el noveno carbono se denomina omega-9. El inicio de la cadena contiene el grupo COOH, mientras que en el final de la cadena, denominado posición omega, se encuentra un grupo CH<sub>3</sub> (Voet y Voet, 2005). En la Figura 5 se muestra un ácido graso omega-3, el ácido docosahexaenoico, este posee 22 átomos de carbono y el primer doble enlace se sitúa en el tercer átomo de carbono a partir de la posición omega.



**Figura 5.** Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA).

Existe una fórmula simple para representar a los ácidos grasos, por ejemplo, 16:0, es el ácido palmítico, el 16 representa el número de átomos de carbono y el 0 expresa la cantidad de dobles enlaces. La fórmula 20:5(n-3) representa al ácido graso de 20 carbonos, 5 dobles enlaces, de la serie omega-3, el ácido eicosapentaenoico (Figura 6) (Jobling *et al.*, 1995).



**Figura 6.** Estructura química del ácido eicosapentaenoico (EPA).

En la Tabla 3 se muestran algunos ácidos grasos, sus fórmulas simples así como sus nombres comunes.

**Tabla 3.** Ácidos grasos con sus fórmulas simples y sus nombres comunes. Fuente: Glencross (2009).

<b>Nombre sistemático</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Nombre común</b>
Ácido tetradecanoico	14:0	Ácido mirístico
Ácido hexadecanoico	16:0	Ácido palmítico
Ácido octadecanoico	18:0	Ácido esteárico
Ácido hexadecenoico	16:1(n-9)	Ácido palmitoleico
Ácido octadecenoico	18:1(n-9)	Ácido oleico
Ácido Icosatetraenoico	20:4(n-6)	Ácido araquidónico
Ácido octadecatrienoico	18:3(n-3)	Ácido alfa-linolénico
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	20:5(n-3)	Ácido timnodónico
Ácido docosahexaenoico (DHA)	22:6(n-3)	Ácido cervónico

### 2.3.2 Funciones e importancia de los ácidos grasos

Los ácidos grasos al igual que los aminoácidos, son unos de los principales constituyentes de los seres vivos. Los aminoácidos forman proteínas mientras que los ácidos grasos desempeñan una gran variedad de funciones tanto en plantas como animales. La primera y más simple función de los ácidos grasos, es el almacenamiento de energía, esto mediante la formación de grasas y aceites. Las grasas y aceites son preferidos para el almacenamiento de energía por sobre las proteínas y los carbohidratos, ya que los primeros contienen casi el doble de energía. La razón de esto, es que las moléculas de los ácidos grasos están más reducidas que la de las proteínas y carbohidratos, es decir,

poseen más átomos de hidrógeno en sus cadenas, en consecuencia, la oxidación de éstos produce más energía, además, la grasa al ser hidrofóbica, no retiene agua en contraste de los polisacáridos los cuales retienen 2 gramos de agua por gramo de polisacárido. Por lo tanto, peso por peso, los lípidos contienen mucha más energía (Lehninger *et al.*, 2005).

Además del simple almacenamiento de energía, los ácidos grasos tienen un papel muy importante en estructuras y otras funciones biológicas. Uno de los más importantes es como componente de las membranas celulares (Sargent *et al.*, 1999; Tocher, 2003; Lehninger *et al.*, 2005). Todos los tipos de células necesitan ser semi-permeables para permitir el paso de algunas moléculas así como restringir el paso de otras. En este contexto, los ácidos grasos altamente insaturados ó HUFA son los de mayor importancia. Las propiedades de las membranas dependen de la naturaleza de los ácidos grasos que las conforman. En peces, así como en animales terrestres, el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3), el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido araquidónico (AA, 20:4n-6), están involucrados en mantener la integridad de las membranas, sin embargo, en los peces, DHA y EPA, son los principales ácidos grasos de las membranas, mientras que en los animales terrestres se conforman de AA (Sargent *et al.*, 1999; Glencross, 2009). Pero existen ciertas excepciones, como son los tejidos neurales, tales como los ojos y el cerebro; el EPA y el DHA se encuentran en los fosfolípidos de las células cerebrales para mantener la fluidez. Por ejemplo, un 25% de la grasa del cerebro humano es DHA, y esta cantidad parece ser independiente de la dieta. DHA es preferido para la correcta construcción y formación de las membranas celulares, sobre todo en tejidos con mucha actividad como el tejido nervioso (Neuringer *et al.*, 1988; Sargent *et al.*, 1995; Rainuzzo *et al.*, 1997; Marszalek y Lodish, 2005; Innis, 2007).

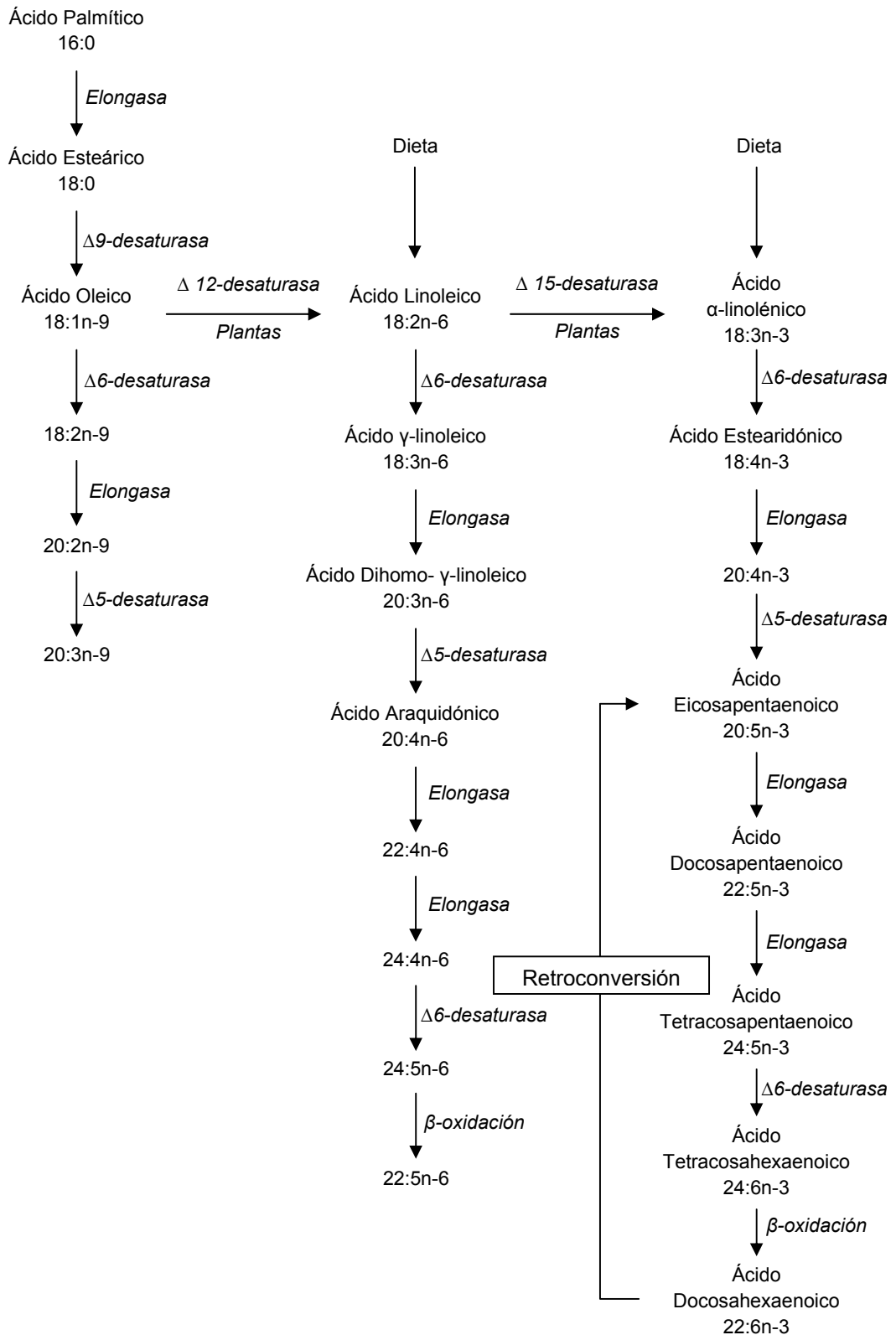
En los peces, estas membranas celulares son mucho más ricas en DHA. En consecuencia, los tejidos de los peces presentan mayores concentraciones de DHA y EPA en comparación de AA (Sargent *et al.*, 2009). Los peces necesitan

una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados en sus membranas, ya que su temperatura corporal depende del medio donde están, por tal razón, la forma de asegurar la fluidez de sus membranas es mediante la incorporación de ácidos grasos altamente insaturados, ya que estos presentan puntos de fusión más bajos. Es por esto, que los peces de aguas frías, son más ricos en omega-3 (Sargent *et al.*, 1999; Breslow, 2006).

Por otro lado, los ácidos grasos, tanto de la serie omega-3 como la omega-6, son precursores de compuestos llamados eicosanoides, los cuales son compuestos conformados de 20 átomos de carbono, estos compuestos son altamente activos dado que participan en una gran cantidad de funciones biológicas, son formados en cantidades pequeñas e incluso traza y se encuentran prácticamente en todos los tipos de tejidos. Los eicosanoides son un grupo de mensajeros celulares formados a partir de AA o EPA, y afectan la presión sanguínea, la coagulación, la respuesta inmune, la reproducción y la secreción gástrica (Tocher, 2003). El principal precursor de eicosanoides en peces, así como en mamíferos, es el ácido araquidónico. El EPA también es precursor de eicosanoides pero estos tienen una actividad menor. Los eicosanoides formados de EPA interfieren competitivamente con las acciones de los eicosanoides formados de AA. Por lo tanto las acciones de los eicosanoides están determinadas por la proporción de ácido AA:EPA. Los eicosanoides derivados de AA, se consideran los responsables de las reacciones inflamatorias, lo cual es una función útil para la defensa y reparación del cuerpo. Por otra parte, los eicosanoides formados a partir de EPA son mucho menos activos, e incluso se consideran como antiinflamatorios. El problema radica en que actualmente, la dieta humana es mucho más rica en ácidos grasos omega-6 en proporción a los ácidos grasos omega-3, esto se correlaciona con la alta prevalencia de padecimientos de carácter inflamatorio como alergias, enfermedades cardiovasculares, artritis, etc. De este problema, surge la importancia de aumentar la ingesta de ácidos grasos de la serie omega-3 y disminuir la ingesta de ácidos grasos omega-6 (Simopoulos, 2002a, 2002b; Marszalek y Lodish, 2005; Lee *et al.*, 2008).

### 2.3.3 Ácidos grasos esenciales en peces y biosíntesis de ácidos grasos insaturados

Los peces, al igual que todos los vertebrados, no poseen el sistema de enzimas (desaturasas) necesarias para la formación de 18:2n-6 y 18:3n-3 a partir de 18:1n-9, los cuales a su vez son precursores de AA, EPA y DHA (Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003). En la Figura 6 se presentan las rutas biosintéticas de los ácidos grasos insaturados, como indica la figura las plantas son las únicas capaces de sintetizar 18:2n-6 y 18:3n-3. La habilidad de los tejidos para sintetizar los HUFA's a partir de los ácidos grasos C18, depende de un complejo de desaturasas y elongasas. Existen 3 tipos de desaturasas en animales de acuerdo al sitio de desaturación en los ácidos grasos:  $\Delta 9$ ,  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$ . Los ácidos grasos 18:1n-9, 18:2n-6 y 18:3n-3 compiten por la misma desaturasa,  $\Delta 6$ . El tipo de ácido graso que será desaturado depende de la afinidad de la enzima por este y de la proporción. En muchas especies, la afinidad de la enzima va en el orden 18:3n-3 > 18:2n-6 > 18:1n-9 (Jobling, 1994; Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003; Guillaume *et al.*, 2004).



**Figura 7.** Esquema simple sobre la biosíntesis de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (Fuente: Tocher, 2003).



Además, la capacidad de un animal para realizar las conversiones de los ácidos grasos C<sub>18</sub> a C<sub>20</sub> y C<sub>22</sub>, depende de que tanto AA, EPA y DHA, pueda obtener directamente preformado de su dieta. Por ejemplo, un carnívoro extremo como el gato, puede obtener una gran cantidad de AA, EPA y DHA de sus presas, y parece expresar muy poca o nula actividad de las enzimas desaturadas  $\Delta 6$  y  $\Delta 5$  (Tocher, 2003).

Existen grandes diferencias en los peces en su capacidad de conversión de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono en sus homólogos de 20 y 22 átomos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Capacidad de bioconversión del ácido linolénico (18:3n-3) (tomado de Guillaume *et al.* 2004).

<b>Especie</b>	<b>Capacidad relativa de bioconversión</b>
Trucha	100
Ayu	36
Anguila	20
Dorada	15
Pez globo	13
Cabracho	7

La capacidad de bioconversión en peces de agua dulce es elevada, al contrario de lo que sucede en peces de agua salada. Varios peces estrictamente marinos tienen una capacidad muy limitada para desaturar y elongar los ácidos grasos 18:3n-3 a sus homólogos de 20 y 22 átomos de carbono, y esto se debe a la ausencia o escasa actividad de las enzimas involucradas, particularmente,  $\Delta 5$  y  $\Delta 6$  desaturadas (Guillaume *et al.*, 2004). La razón de esto es que el ambiente marino al ser rico en EPA y DHA, originados principalmente por diatomeas y flagelados, los cuales son transmitidos a los peces a través del zooplancton, lo que resulta en un “exceso” de EPA y DHA en la dieta de los peces marinos. En

contraste, las presas de los peces de agua dulce son deficientes en 22:6n-3, y ricas en 18:2n-6 y 18:3n-3, y en menor medida en 20:5n-3 (Tocher, 2003). Para muchas especies de peces marinos, no se ha establecido un requerimiento cuantitativo de ácidos grasos n-6 ya que este es muy bajo. Pero esto no significa que dichas especies no requieran de estos ácidos grasos, si no que sus requerimientos son tan bajos que no se detectan en los estudios tradicionales (Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003).

En resumen, la capacidad de bioconversión de los ácidos grasos de 18 átomos de carbono en ácidos grasos altamente insaturados, permite distinguir dos categorías de peces: por un lado los peces de agua dulce, los cuales tienen una capacidad de bioconversión de ácidos grasos bastante comparable con las de mamíferos y en la que los únicos ácidos grasos esenciales son los ácidos grasos de 18 átomos de carbono, linoleico y linolénico; y por otro lado, los peces marinos, en los que la capacidad de bioconversión son muy reducidas, y en la que los ácidos grasos realmente importantes son los HUFA, AA, EPA y DHA (Guillaume *et al.*, 2004).

#### 2.4 Reemplazo de Aceite de Pescado por Aceites Vegetales en Dietas para Peces y su Efecto en Crecimiento

A continuación se exponen una serie estudios donde se probó el reemplazo del aceite de pescado por aceites vegetales. La gran mayoría de dichos estudios se han efectuado en peces salmónidos, dada la importancia comercial de estas especies.

Unos de los primeros trabajos en este ámbito fue el de Dosanjh *et al.*, en 1984, en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), en este estudio se realizó un

experimento por 84 días donde se probó el potencial del aceite de canola, solo o en una mezcla con grasa de cerdo y aceite de pescado; encontraron que el crecimiento de los organismos no se vio afectado en ninguno de los tratamientos. En otra investigación, Dosanjh *et al.*, (1988) probaron los mismos tratamientos en el salmón rey (*Oncorhynchus tshawytscha*), durante 62 días, obteniendo el mismo resultado que en el trabajo anterior. Estos resultados mostraron el gran potencial que tenía el aceite de canola para sustituir al aceite de pescado en alimentos para salmónidos.

En el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) se evaluó la sustitución parcial del aceite de pescado por aceite de canola, los niveles que se probaron fueron 0, 15, 31 y 47%; al final de los 112 días del bioensayo no se observaron diferencias en el peso final, pero si en la tasa de crecimiento específico, donde la mayor se obtuvo con el tratamiento de 15% pero esta solo fue diferente del tratamiento de 31% de sustitución. Los autores concluyeron que el aceite de canola puede conformar 47% de los lípidos en la dieta (Dosanjh *et al.*, 1998). En otro estudio, Bell *et al.*, (2001b) probaron el 100% de reemplazo con aceite de canola en la misma especie de salmón en un experimento de 17 semanas, donde no se observaron diferencias en crecimiento y en utilización del alimento. Sin embargo, los autores puntualizan que las dietas experimentales fueron formuladas de tal forma que se cubrieran los requerimientos de ácidos grasos esenciales de la especie. El mismo resultado se obtuvo en un experimento similar (Bell *et al.*, 2003b), en adición al aceite de canola también se probó el aceite de linaza, la diferencia fue que en esta segunda investigación, el experimento tardó 50 semanas, abarcando el ciclo completo de producción del salmón, al final del experimento se obtuvieron pesos menores en los grupos alimentados con aceites vegetales. Sin embargo, los autores discuten que dichas diferencias no se debieron a los tratamientos, ya que no encontraron una correlación entre los ácidos grasos en dieta y el peso final. Del mismo modo, Bell *et al.*, (2001a) mencionan que es posible la sustitución total del aceite de pescado utilizando aceite de palma sin afectar el crecimiento ni la conversión del alimento. Grisdale-Helland *et al.*, (2002) lograron el reemplazo total con

aceite de soya en esta misma especie sin observar una disminución en el crecimiento de los peces. Por otro lado, Jutfelt *et al.*, (2007), probaron el reemplazo con aceite de girasol durante la esmoltificación *S. salar*, en este trabajo, además de evaluar el crecimiento, el cual no se vio perjudicado por la sustitución total, también se estudió la asimilación de nutrientes, la función de barrera del intestino ante diversos patógenos y el cortisol en plasma, encontrando un efecto positivo del aceite de girasol en la dieta sobre la asimilación y la protección ante patógenos, sin embargo, el aceite de girasol actuó como estresor, ya que ocasionó niveles más altos de cortisol en plasma.

En trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), Caballero *et al.*, (2002) probaron la sustitución con distintos aceites vegetales solos o en mezclas, entre ellos probaron el 60% de sustitución con aceite de canola y una mezcla con 40% canola, 40% palma y 20% aceite de pescado, ambos tratamientos no afectaron negativamente los parámetros de crecimiento y aprovechamiento del alimento. En un estudio más reciente con trucha arcoíris, se logró un 75% de reemplazo del aceite de pescado por aceite de canola, en esta investigación también se estudió la preferencia de los peces por la fuente de lípidos. Los resultados indicaron que los peces prefieren el aceite de pescado, pero éstos no discriminan entre las distintas concentraciones de aceite de canola (Pettersen *et al.*, 2009). Turchini *et al.*, (2011) lograron reemplazar totalmente el aceite de pescado por aceite de linaza en la trucha arcoíris, en este estudio también se evaluaron las características organolépticas de los filetes. Los consumidores lograron diferenciar entre tratamientos, sin embargo, esto no se tradujo en preferencia por alguno de los dos.

En cuanto a peces estrictamente marinos también existe gran cantidad de información sobre el reemplazo de aceite de pescado por aceites vegetales. Glencross *et al.*, (2003a) evaluaron la sustitución del aceite de pescado por aceite de soya, aceite de canola crudo y refinado en dietas para pargo australiano *Pagrus auratus*, las concentraciones utilizadas fueron de 0, 25, 50, 75 y 100%. El único tratamiento que afectó negativamente la tasa de

crecimiento fue el de 100% con aceite de canola crudo, sin embargo, este no afectó la conversión del alimento.

En la dorada *Sparus aurata*, Izquierdo *et al.*, (2003) lograron hasta un 60% de sustitución con aceite de canola. Un resultado bastante similar al encontrado por Martínez-Llorens *et al.*, (2007) utilizando aceite de soya, en dicho trabajo se probaron cuatro concentraciones, 0%, 24%, 48% y 72%, los peces alimentados con el tratamiento 72% presentaron el menor peso al final del experimento, sin embargo, no hubo diferencias significativas en la tasa de crecimiento específico ni en el factor de conversión alimenticia.

Izquierdo *et al.*, (2003) también lograron un 60% de sustitución en la dieta de la lubina europea *Dicentrarchus labrax*. Montero *et al.*, (2005) obtuvieron un resultado similar para la misma especie, donde los organismos del tratamiento con 60% de sustitución tuvieron un menor peso final, sin embargo, la tasa de crecimiento específico no se vio afectada. Mourente *et al.*, (2005) encontraron el mismo resultado, pero en este caso utilizando una mezcla de varios aceites vegetales para reemplazar el 60% del aceite de pescado, se probaron dos tratamientos en los que emplearon aceite de linaza, palma y canola, en 35%, 15% y 10%, y en 24%, 12% y 24%, respectivamente, ninguno de los tratamientos afectó el crecimiento de los peces.

En el sargo picudo *Diplodus Puntazzo*, Piedecausa *et al.*, (2007) reportan que es posible el reemplazo total del aceite de pescado con aceite de linaza y aceite de soya, sin afectar los parámetros de crecimiento de los peces y eficiencia del alimento.

En un estudio realizado por Huang *et al.*, (2007) en el pargo japonés *Pagrus major*, se probó la sustitución del aceite de pescado por aceite de canola en 0%, 33%, 67% y 100%, al final del experimento no se encontraron diferencias en el crecimiento entre los tratamientos. En el besugo negro *Acanthopagrus schlegeli* la sustitución total de aceite de pescado por aceite de soya ocasionó

un menor crecimiento en los peces, sin embargo, las sustituciones del 60 y el 80% no afectaron el crecimiento (Peng *et al.*, 2008).

En organismos juveniles de mero *Cromileptes altivelis*, se logró reemplazar en un 100% al aceite de pescado con aceite de canola sin efectos negativos en el crecimiento de acuerdo con Shapawi *et al.*, (2008).

Villa-López y García-Ortega (2009) en una investigación con un pez tropical, el botete diana (*Sphoeroides annulatus*), reportaron que es posible sustituir hasta el 90% del aceite de pescado en la dieta por aceite de canola sin afectar de manera negativa el crecimiento así como la utilización del alimento, empleando harina de pescado como la principal fuente de proteína, sin embargo, al emplear una fuente de proteína vegetal (concentrado de soya) el crecimiento y la utilización del alimento si se vieron afectados negativamente.

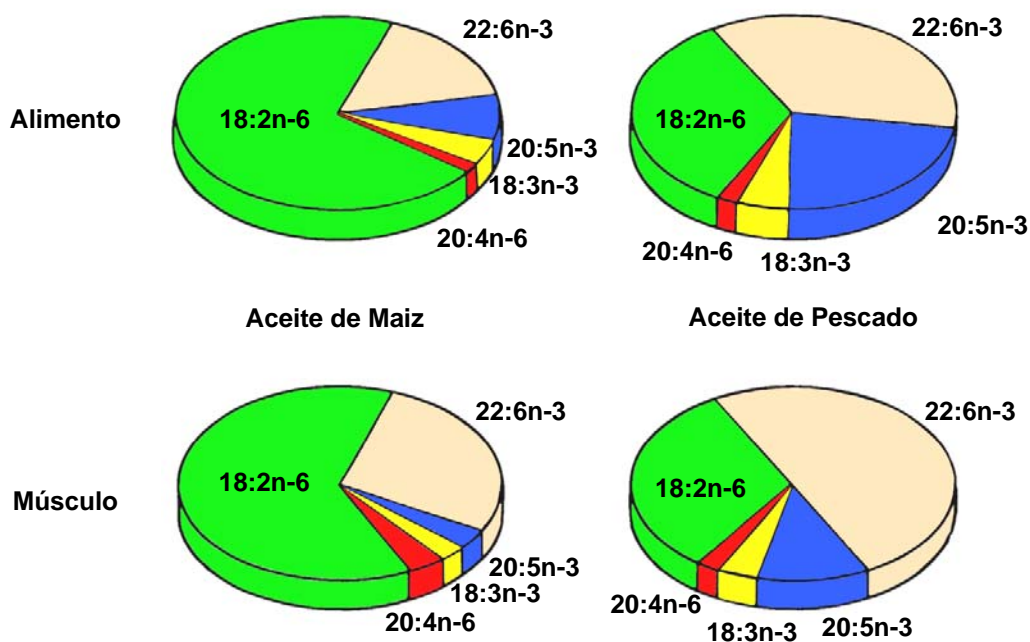
En síntesis, la literatura demuestra que los aceites vegetales tienen gran potencial para sustituir al aceite de pescado en el cultivo de peces, ya que los estudios mencionados anteriormente indican que inclusive con el reemplazo total, el crecimiento y el aprovechamiento del alimento no se ven afectados.

## 2.5 Estudios Sobre Dietas de Finalización en Peces en Cultivo

Anteriormente se comentó que la composición de ácidos grasos de los tejidos de los peces depende prácticamente de la dieta. Si la dieta es rica en aceites vegetales, se espera una disminución en la concentración de ácidos grasos omega-3 y un incremento en la concentración de ácidos grasos omega-6, ya que los aceites vegetales carecen totalmente de HUFA omega-3 y por el contrario, son ricos en omega-6 (Turchini *et al.*, 2009). Por lo tanto, la calidad de

la carne de los peces engordados con aceites vegetales se ve afectada desde el punto de vista nutricional.

En la Figura 8 se presenta la influencia que pueden tener los lípidos en dieta sobre el músculo de la trucha en un experimento con aceite de maíz y aceite de pescado. Se observa un alto contenido de omega-6 en el músculo de las truchas alimentadas con aceite de maíz, mientras que en la trucha alimentada con aceite de pescado predominan los ácidos grasos omega-3.



**Figura 8.** Influencia de la fuente de lípidos en dieta sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de la trucha. Fuente: Guillaume *et al.*, (2004).

Una manera de manipular el contenido de ácidos grasos omega-3 en la carne de los peces en cultivo, es a través de las dietas de finalización. Como el nombre lo indica, una dieta de finalización consiste en suministrar a los peces en cultivo una fuente de lípidos rica en HUFA omega-3 (aceite de pescado) al

final del ciclo de cultivo, mientras que la mayor parte de la engorda se realice con lípidos de origen vegetal (Jobling, 2004).

Existen varios trabajos sobre la efectividad de esta estrategia en distintas especies de peces. Glencross *et al.*, (2003b) probaron una dieta de finalización en organismos juveniles de pargo australiano (*P. auratus*) de un peso de 58 gramos, se suministró una dieta con aceite de pescado por 32 días después de haber alimentado a los peces con un 60% de aceite de canola. Se encontró que los ácidos grasos EPA y DHA se recuperaron al mismo nivel que en el grupo control, pero los ácidos linoleico y linolénico se encontraron en mayor concentración que en el grupo control.

En un estudio con salmón del atlántico (*S. salar*), Bell *et al.*, (2003a) primero probaron la engorda con aceites de linaza y canola a un 100% de sustitución durante 50 semanas y el crecimiento no se vio afectado, hubo una reducción dramática en la concentración de EPA y DHA en el músculo de los salmones, siendo estas de 30% y 36% del control respectivamente. El experimento continuó por 20 semanas más para probar la dieta de finalización con aceite de pescado; los niveles de los ácidos grasos EPA y DHA en el músculo fueron recuperados en un 80%, y se logró reducir el ácido linoleico en un 50%.

En el rodaballo *Psetta maxima*, Regost *et al.*, (2003) experimentaron primero con la sustitución total de aceite de pescado por aceite de soya y linaza por 13 semanas, el crecimiento se vio afectado por la fuente de lípidos y también se observó una reducción significativa en el contenido de HUFA omega 3. Después emplearon una dieta de finalización por 8 semanas más, desafortunadamente no se logró recuperar totalmente los ácidos grasos altamente insaturados y solo se logró una reducción de ácido linoleico y ácido linolénico en un 40 y 50% respectivamente.

En la dorada (*S. aurata*) también se han realizado este tipo de investigaciones, Izquierdo *et al.*, (2005) se utilizó la dieta de finalización por 90 días, ellos reportan la recuperación de DHA en músculo al mismo nivel del grupo control,



más no de EPA, sin embargo, la concentración de EPA fue similar a la de organismos silvestres, añaden que aún después de la dieta de finalización, el ácido linoleico fue fuertemente retenido, presentando niveles bastante elevados después de la dieta de finalización. Estos resultados contrastan un poco con los de Fountoulaki *et al.*, (2009), ya que en este trabajo solo se logró una recuperación del 47% de DHA y un 45% de EPA en los filetes de los peces. Asimismo, el ácido linoleico tuvo una reducción del 25%, la principal razón a la que atribuyen estos resultados, es la baja temperatura a la que estuvieron sometidos los peces, esta fue de 15-17° C, la cual no es la adecuada para el crecimiento óptimo de esta especie. Dicha temperatura ocasionó en una menor ingesta de alimento y por lo tanto en un crecimiento más lento. La misma conclusión fue hecha por Mourente y Bell (2006), en un estudio con lubina europea (*D. labrax*) sometidos a condiciones experimentales similares, donde se alimentó por 16 meses con aceites vegetales, seguidos de 5 meses con dieta de finalización a una temperatura de 20°C, solo lograron una recuperación de alrededor del 70% de DHA y EPA en la carne.

Montero *et al.*, (2006) utilizaron una dieta de finalización en ejemplares de lubina europea (*D. labrax*) alimentados con aceites de soya, linaza y canola a un 60% de los lípidos en dieta; se obtuvo una recuperación de DHA en el músculo a niveles del grupo control, más no de EPA, en adición, solo se logró reducir el ácido linoleico en un 36% y el ácido linolénico en un 50%.

En el bacalao del atlántico *Gadus morhua*, Joblin *et al.*, (2008) probaron primero la sustitución con aceites vegetales, para ello formularon cuatro tratamientos: aceite de pescado en un 17% de la dieta (alta en grasa), aceite de pescado en un 13%(baja en grasa), aceite de canola en un 13% y aceite de palma en un 13%. En esta primera fase del estudio no se encontraron diferencias en crecimiento y en índices de rendimiento, sin embargo los peces alimentados con aceite de pescado acumularon más grasa, además los peces alimentados con alguno de los aceites vegetales tuvieron una reducción en HUFA n-3. Al terminar la primera fase, probaron la dieta de finalización, la cual concluyó

cuando los peces triplicaron el peso. Al final del experimento no se detectó diferencia significativa alguna entre los tratamientos en cuanto a los porcentajes de ácidos grasos omega-3.

Tomando en cuenta los argumentos expuestos anteriormente sobre la urgencia de encontrar fuentes de lípidos alternativas al aceite de pescado para la acuicultura, el propósito del presente estudio fue evaluar el aceite de canola como sustituto del aceite de pescado en la dieta del pargo *L. guttatus*. Adicionalmente se evaluó el uso de una dieta de finalización, utilizando aceite de pescado como única fuente de lípidos como estrategia para recuperar los ácidos grasos omega-3 particularmente EPA y DHA, en el músculo del pargo lunarejo alimentado con diferentes concentraciones de aceite de canola.

### III. HIPOTESIS

La inclusión de aceite de canola en el alimento como fuente parcial o total de lípidos, no tiene un efecto negativo el crecimiento de *Lutjanus guttatus*, pero ocasionará una reducción del contenido de ácidos grasos omega-3 en el músculo del pez, el cual se recupera a niveles habituales utilizando una dieta de finalización formulada con aceite de pescado.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la sustitución de aceite de pescado por aceite de canola en el alimento sobre el crecimiento y perfil de ácidos grasos del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, así como evaluar la utilización de una dieta de finalización con aceite de pescado.

### 4.2 Objetivos Particulares

- Conocer el efecto de la sustitución del aceite de pescado por aceite de canola (0, 25, 50 y 100%) en dieta sobre el crecimiento de *L. guttatus*.
- Conocer el efecto de las diferentes concentraciones de aceite de canola en el alimento sobre la composición de ácidos grasos del músculo de *L. guttatus*.
- Evaluar el efecto de una dieta de finalización con aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos del músculo de *L. guttatus* previamente alimentados con aceite de canola.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se realizó un experimento, el cual fue dividido en dos fases. En la primera fase se estudió la sustitución del aceite de pescado por aceite de canola con niveles de sustitución 0, 25, 50 y 100%, en dietas para la engorda del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, por triplicado. En una segunda fase se evaluó una dieta de finalización por tres meses (previa alimentación con dieta a base de XX% de aceite vegetal), en la que la fuente de lípidos era aceite de pescado solamente (0% canola), suministrándosele a todos grupos.

### 5.1 Dietas experimentales

#### 5.1.1 Formulación de las dietas

Se formularon cuatro dietas experimentales con un 45% de proteína y 15% de lípidos (Tabla 5). Como fuentes de proteína se utilizó harina de pescado, harina de jaiba y manto de calamar gigante fresco. Las fuentes de lípidos fueron aceite de pescado y aceite de canola, el aceite de pescado se sustituyó en 0, 25, 50 y 100% por aceite de canola en las diferentes dietas, se empleó una marca de aceite comercial.

**Tabla 5.** Formulación de las dietas experimentales (g/kg).

<b>Ingrediente</b>	<b>0% Canola</b>	<b>25% Canola</b>	<b>50% Canola</b>	<b>100% Canola</b>
Harina de pescado <sup>a</sup>	452.58	452.58	452.58	452.58
Harina de jaiba <sup>a</sup>	150	150	150	150
Calamar fresco <sup>b</sup>	110	110	110	110
Dextrina <sup>c</sup>	100	100	100	100
Aceite de pescado <sup>c</sup>	93.02	69.77	46.51	0
Aceite de canola <sup>d</sup>	0	23.26	46.51	93.02
Acemite de trigo <sup>e</sup>	53.64	53.64	53.64	53.64
Alginato <sup>c</sup>	20	20	20	20
Premezcla vit-min <sup>f</sup>	20	20	20	20
Astaxantina <sup>g</sup>	0.75	0.75	0.75	0.75

a. Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V.

b. Manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*)

c. Droguería Cosmopolita S.A. de C.V.

d. Aceite comercial Vita, elaborado por Proteínas y Oleicos S.A. de C.V.

e. Munsa Molinos S.A. de C.V.

f. DSM Nutritional Products Mexico S.A. de C.V. Nutrientes (por kg): Vitamina A: 536 KUI; Vitamina D3: 133.5, Vitamina E: 6,666.5 mg, Vitamina K3: 666.86 mg, Vitamina B1: 1,000.04 mg, Vitamina B2: 1000 mg, Vitamina B6: 666.66 mg, Vitamina B12: 1.33 mg, Vitamina C: 6,666.8 mg, Nicotinamida: 5,334 mg, Acido Pantoténico: 2,666.7; Acido Fólico: 333.12 mg, Biotina: 33.34 mg, Cloruro de Colina: 26,680.2 mg, Cobre:333.25, Hierro: 3,333.44 mg, Manganeso: 1,103.36, Cobalto: 6.72, Yodo: 33.48, Zinc: 3,333.24, Selenio: 6.67 mg, Antifúngico: 40,000 g, Magnesio: 13,333.3 mg, Inositol: 6,486.39 mg, IQ AN: 8 g, Secuestrante de micotoxinas: 200,000 g.

g. DSM Nutritional Products México S.A. de C.V. Carophyll pink (8% astaxantina activa).

La formulación de las dietas se hizo en base a la composición proximal de los ingredientes, específicamente la harina de pescado, la harina de jaiba, el manto de calamar fresco y el acemite de trigo, ya que la composición de estos ingredientes puede variar considerablemente (Tabla 6).

**Tabla 6.** Composición proximal (% base seca) de los ingredientes utilizados en la elaboración de las dietas experimentales.

<b>Ingredientes</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Ceniza</b>	<b>Humedad</b>
Harina de pescado	72.9 ± 0.4	8.7 ± 0.1	14.3 ± 0.4	8.0 ± 0.0
Harina de jaiba	32.5 ± 0.2	0.3 ± 0.0	51.5 ± 0.6	8.6 ± 0.0
Calamar fresco	88.7 ± 0.2	2.3 ± 0.6	7.0 ± 0.0	84.4 ± 0.2
Acemite de trigo	19.7 ± 0.0	4.4 ± 0.8	4.3 ± 0.1	11.20 ± 0.1

### 5.1.2 Elaboración de las dietas

Se pulverizaron las harinas de pescado y de jaiba así como el acemite de trigo en un molino de martillos Micrón K-20. Después se pesaron en básculas (Mettler Toledo PL202-S y Ohaus T51P) todos los ingredientes según la formulación y se mezclaron en una batidora (Hobart A-200T) con capacidad para 5 kg. Primero se mezclaron los ingredientes secos de mayor proporción, después los de menor proporción, luego se agregaron los aceites y por último el calamar fresco, el cual fue previamente triturado a través de un molino para carne (Torrey M-22R2).

Una vez que se logró una mezcla homogénea, se hicieron pellets pasando la mezcla por el molino para carne. El tamaño de pellet para la primera fase fue de 3.3 mm, para la segunda fase se utilizó pellet de 4.8 mm. Posteriormente se colocaron los pellets en charolas dentro de un secador de aire forzado a 45° C durante 16 horas (Figura 9). Después de secar el alimento, este se cortó en trozos de aproximadamente 1cm longitud, se colocó dentro de bolsas negras y se almacenó en refrigeración a 4° C.



**Figura 9.** Elaboración de las dietas. A) Mezcla de ingredientes. B) Formación de pellets. C) Colocación de alimento en charolas para secado. D) Alimento seco en forma de pellets.

## 5.2 Análisis Proximal

Una vez que se finalizó la elaboración de las dietas, se les realizó un análisis de composición proximal por triplicado. Del mismo modo, se analizó el cuerpo entero de los peces por triplicado, al inicio y al final de cada fase del experimento. Para esto, se tomaron 3 peces por cada tratamiento (1 pez por réplica). Los peces fueron cortados en trozos pequeños para así facilitar su posterior homogenización utilizando una licuadora.



Para cuantificar la cantidad de proteína, se utilizó el método de combustión de Dumas (Ebling, 1968), el cual consiste en la combustión de la muestra a una temperatura de 950°C en presencia de oxígeno, lo que lleva a la liberación de dióxido de carbono, agua y nitrógeno; el agua y el dióxido de carbono son separados del nitrógeno, éste último es cuantificado a través de una celda de conductividad térmica; este proceso se realizó con ayuda de un equipo automatizado para detección de nitrógeno (Leco FP – 528).

Los lípidos totales se determinaron con el método Soxhlet (Método 920.39, AOAC, 1984), cuyo fundamento es la extracción de la grasa utilizando un solvente orgánico. Primeramente las muestras fueron secadas, después se pesaron 0.5 g y se colocaron en dedales para extracción, el solvente utilizado fue éter de petróleo y el proceso de extracción se efectuó con un equipo Micro Soxhlet (Foss Tecator).

La determinación de la cantidad de cenizas se hizo por diferencia de peso, para esto, se colocaron las muestras en crisoles de porcelana, después se introdujeron a una mufla a 550°C por un periodo de 12 horas y finalmente se volvieron a pesar (Método 14.006, AOAC 1984).

La cantidad de humedad fue determinada también por diferencia de peso después del secado de las muestras con aire forzado a 105° C en estufa por 12 horas (Método 14.003, AOAC 1984) (Anexo I).

### 5.3 Perfil de Ácidos Grasos

El perfil de ácidos grasos fue determinado tanto en las dietas experimentales como en el músculo de los peces al inicio y al final de cada fase del estudio. Para esto se tomaron 3 peces por cada réplica (9 peces por tratamiento) y se hizo una muestra compuesta o “pool”, la cual se corrió por triplicado. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Vegetal del CIAD Unidad Culiacán.

La determinación del perfil de ácidos grasos se efectuó en 3 partes: extracción de lípidos, metilación de los ácidos grasos, y por último la identificación y cuantificación de los ácidos grasos a través de cromatografía de gases.

La extracción de los lípidos en las muestras se llevó a cabo con el método expuesto por Folch *et al.* (1957). Dicho proceso consiste en la extracción de la grasa utilizando solventes orgánicos, en este caso, una mezcla de cloroformo:metanol en una proporción 2:1; después de extraer los lípidos, se debe separar el agua extraída y otras impurezas con una solución salina (KCl) empleando un embudo de separación, después, se recoge la fase orgánica y se evaporan los solventes utilizando un evaporador rotatorio a 45°C.

El siguiente paso consistió en la metilación de los ácidos grasos de acuerdo al Método 969.33 de la AOAC (2000), esto para estabilizar los ácidos grasos y evitar su degradación. Se utilizó Trifloruro de Boro como catalizador; una vez obtenidos los ácidos grasos metilados, se almacenaron en viales color ámbar y en atmósfera de N<sub>2</sub>, a una temperatura de -15°C para su posterior análisis, este último paso se efectúa para evitar al máximo la oxidación de los ácidos grasos (Anexo II).

Finalmente se realizó la identificación y cuantificación de los ácidos grasos a través de cromatografía de gases. Para esto se empleó un cromatógrafo (Varian CP-38000) con detector de ionización de flama. Se utilizó una columna capilar Omegawax™ 320 (Supelco) de 30m x 0.3mm con un grosor de película de 0.25µm. La temperatura de inyector fue de 275°C y un tiempo de corrida de 40 minutos. El flujo de la columna fue 3ml/min a una presión de 14.1 psi. Los ácidos grasos se identificaron y cuantificaron comparando con los tiempos de retención de un estándar compuesto por 37 ácidos grasos metil ésteres C4-C24 (Supelco, cat18919-1AMP) (AOAC 963.22).

## 5.4 Determinación Calorimétrica

El contenido de la energía en la dieta es uno de los principales factores que afectan la ingesta de alimento en peces (Turchini *et al.*, 2009), el contenido de energía del alimento se relaciona directamente con la cantidad de proteína y lípidos que contiene. Se determinó el contenido energético de las dietas para observar si los diferentes niveles de aceite de canola causaban diferencias en el mismo, y en consecuencia afectar la ingesta o el crecimiento de los peces. Esto se realizó a través de un microcalorímetro (Semimicro Parr). Se calibró el equipo con muestras de contenido calórico conocido, en este caso ácido benzoico. Las muestras de alimento fueron comprimidas en forma de pastillas utilizando una prensa y posteriormente se incineraron en presencia de oxígeno (45 atm), el incremento de la temperatura, producido por la liberación de energía de la muestra al oxidarse, fue registrado automáticamente por un sensor sumergido en la cámara con agua del calorímetro (Anexo III). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Ecofisiología y Cultivos de Apoyo, en la Facultad Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa

## 5.5 Sistema Experimental

### 5.5.1 Generalidades de los tanques

Se utilizaron sistemas experimentales diferentes para cada fase del estudio. Dado que se tenían 4 tratamientos, y estos se probaron por triplicado, durante la primera fase se utilizaron 12 tanques cilíndricos de fibra de vidrio de 600 litros, con fondo y paredes de color negro (Figura 10). Por la parte superior de los tanques se suministró un flujo continuo de 5 litros/minuto de agua de mar filtrada. La salida de agua se colocó en en medio y en el fondo de estos. Se proporcionó aireación constante mediante piedras difusoras, y se colocaron

mallas de plástico color negro para evitar que los peces saltaran fuera de los tanques.



**Figura 10.** Tanques de fibra de vidrio de 600 litros utilizados durante la primera fase del experimento.

Para la segunda fase, se utilizaron 12 tanques cilíndricos de fibra de vidrio de 3000 litros, también con paredes y fondo de color negro (Figura 11). El área donde se colocaron los tanques estuvo protegida de la luz solar con una malla sombra (25% reducción), además cada tanque fue cubierto también con la misma malla sombra. De igual manera se suministró agua de mar constantemente, a un flujo de 3 litros/minuto. También se utilizaron piedras difusoras para la aireación de los tanques.



**Figura 11.** Tanques de fibra de vidrio de 3000 litros utilizados durante la segunda fase del experimento.

### **5.5.2 Parámetros ambientales**

Se registraron diariamente los parámetros de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en agua, con ayuda de un medidor multiparamétrico (YSI Modelo 85). Durante la primera fase, la temperatura promedio fue de  $29.8 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$ , la salinidad promedio fue de  $31 \pm 0.7$  ppm y el oxígeno disuelto de  $5.1$  mg/l; para la segunda estos fueron de  $24.6 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ ,  $32.1 \pm 0.5$  ppm y  $5.3$  mg/l, respectivamente.

## **5.6 Organismos de Estudio**

### **5.6.1 Procedencia**

Se utilizaron pargos juveniles de la especie *L. guttatus* provenientes del Laboratorio de Reproducción y Genética del CIAD Mazatlán. Los peces fueron mantenidos en los tanques del Laboratorio de Nutrición y Larvicultura del CIAD Unidad Mazatlán, y fueron engordados hasta alcanzar la talla de estudio con

alimento comercial (INVE) y con una dieta formulada en el mismo laboratorio (García-Ortega, 2009). La talla inicial promedio de los peces para el experimento fue de  $76.9 \pm 9.9$  gramos.

### **5.6.2 Alimentación de los peces**

Durante el experimento los peces se alimentaron a saciedad aparente dos veces al día (9:00 am y 4:00 pm). El alimento se suministró de forma manual y se registró el consumo de cada tanque diariamente. La primer fase del experimento, en la que se probó la sustitución del aceite de pescado por aceite de canola, tuvo una duración de 102 días, una vez concluido este periodo se continuó con la dieta de finalización a todos los grupos, la cual tuvo una duración de 94 días.

## **5.7 Evaluación del Crecimiento y Supervivencia**

### **5.7.1 Biometrías**

Para monitorear el crecimiento de los peces se hicieron biometrías cada mes. Los peces se pesaron individualmente (Báscula T51P Ohaus) y se les tomó la longitud total con la ayuda de un ictiómetro. Para esto, los peces eran sacados de los tanques con redes y se anestesiaban en una cubeta con una solución de 2 – fenoxietanol (Sigma-Aldrich, Inc) a una concentración de 0.5 ml/l, para así facilitar el manejo y evitarles el estrés. Una vez hechas las mediciones, los peces se colocaron en un tanque pequeño con flujo y aireación abundante para que se recuperaran y luego fueron devueltos a sus tanques (Figura 12).



**Figura 12.** Manipulación de los peces durante las biometrías.

### 5.7.2 Parámetros de crecimiento y utilización del alimento

Se calcularon los siguientes parámetros para evaluar el crecimiento y la eficiencia del alimento:

a) Incremento en peso = Peso final (g) – Peso inicial (g)

b) Tasa de crecimiento

$$TC (\%) = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} \times 100$$

c) Tasa de crecimiento específico

$$\text{TCE (\% día}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{Ln peso final (g)} - \text{Ln peso inicial (g)})}{\text{tiempo (días)}} \times 100$$

d) Factor de conversión alimenticia

$$\text{FCA} = \frac{\text{Alimento consumido (g)}}{\text{Peso ganado (g)}}$$

e) Tasa de eficiencia del alimento

$$\text{TEA} = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Alimento consumido (g)}} \times 100$$

f) Tasa de eficiencia proteica

$$\text{TEP} = \frac{\text{Peso ganado (g)}}{\text{Proteína consumida (g)}}$$

g) Utilización neta de proteína

$$\text{UNP} = \frac{\text{Ganancia de proteína en el pez (g)}}{\text{Proteína consumida (g)}} \times 100$$

h) Índice hepatosomático

$$\text{IH} = \frac{\text{Peso del hígado (g)}}{\text{Peso del pez (g)}} \times 100$$

i) Supervivencia

$$\text{S(\%)} = \frac{\text{Número de peces al final (g)}}{\text{Número de peces al inicio (g)}} \times 100$$



## 5.7 Análisis Estadísticos

Primeramente se realizó un análisis para la detección de datos anómalos por medio de la Prueba de Grubb utilizando el software Statgraphics Centurion (Statpoint Inc, 2007).

Las variables de los diferentes tratamientos fueron comparadas por medio de ANOVA de una vía, previo a esto, se les realizó una prueba de normalidad y homosedasticidad (Pueba de Saphiro-Wilk). En caso de no cumplir con estos supuestos, se efectúo un ANOVA de rangos de Kruskal – Wallis. Estos análisis fueron llevados a cabo con ayuda del software SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, 2008).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Análisis de Composición Proximal de las Dietas Experimentales

Se encontraron diferencias significativas en los diferentes componentes proximales entre las dietas experimentales (Tabla 7). Las dietas 50% y 100% canola presentaron un contenido de grasa y proteína significativamente mayor a las dietas 0 y 25% canola. En cuanto a la ceniza, ésta no mostró diferencias significativas entre las dietas experimentales. Con respecto a la humedad, la dieta 100% Canola fue la que tuvo menor cantidad sucediendo lo contrario con la dieta 0% canola.

Respecto a la cantidad de energía, no se encontró diferencias entre las diferentes dietas, por lo que se puede considerar que las dietas son isoenergéticas.

**Tabla 7.** Composición proximal (% base seca) y contenido energético de las dietas experimentales.

<b>Dieta</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Ceniza</b>	<b>Humedad</b>	<b>Energía (kJ/g)</b>
0% Canola	47.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	16.7 ± 0.1	7.3 ± 0.0 <sup>a</sup>	21.4 ± 1.2
25% Canola	47.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	14.1 ± 0.0 <sup>b</sup>	16.7 ± 0.4	6.6 ± 0.0 <sup>b</sup>	22.2 ± 0.1
50% Canola	48.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	14.7 ± 0.0 <sup>a</sup>	16.7 ± 0.1	6.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	22.3 ± 0.9
100% Canola	47.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	14.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	16.8 ± 0.6	5.7 ± 0.1 <sup>c</sup>	21.8 ± 0.2

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

Las diferencias de la composición proximal, entre la cantidad teórica y la real, pueden deberse a diversos factores que pueden haber ocurrido al momento de

procesar el alimento o durante el análisis. La variación en el contenido de humedad de las dietas en este estudio influyó en el contenido detectado de proteína y lípidos. Sin embargo, las diferencias detectadas fueron menores al 6% del contenido más alto de lípidos totales, el cual se encuentra dentro del rango del requerimiento de lípidos de la especie (García-Ortega, 2009). Este clase de variaciones ocurren en la mayoría de los trabajos de este tipo (Gunasekera *et al.*, 2002; Izquierdo *et al.* 2005; Montero *et al.*, 2005; Mourente *et al.*, 2005; Mourente y Bell, 2006; Francis *et al.*, 2007; Fountounlaki *et al.*, 2009) Por lo que se consideró que dichas diferencias no tuvieron efecto sobre los parámetros de crecimiento y utilización del alimento de los peces.

## 6.2 Perfil de Ácidos Grasos de las Dietas Experimentales

En la Tabla 8 se presenta el perfil de ácidos grasos del aceite de pescado, del aceite de canola y de la harina de pescado utilizados en la elaboración de las dietas experimentales.

El aceite de pescado mostró una concentración baja de ácidos grasos omega-6 y una concentración alta de ácidos grasos omega-3; estando presente en mayor proporción el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) al ácido docosahexaenoico, lo cual concuerda con lo reportado por diversos autores (Sargent, 1997; Turchini *et al.*, 2009). La harina de pescado también mostró un alto contenido de ácidos omega-3, sin embargo, la proporción de n-3:n-6 en la harina de pescado fue mucho mayor a la del aceite de pescado, ya que la harina de pescado presentó una cantidad mucho menor de ácidos grasos omega-6.

El aceite de canola mostró la composición típica de ácidos grasos de acuerdo con la literatura (Eskin y McDonald, 1991; Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003; Turchini *et al.*, 2009), éste se conformó prácticamente de ácido oleico (18:1n-9) y ácido linoleico (18:2n-6), con una pequeña porción de ácido linolénico (18:3n-3), dando como resultado una proporción n-3:n-6 muy baja.

**Tabla 8.** Perfil de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) de los ingredientes utilizados en la elaboración de las dietas.

Ácido graso	Aceite de Pescado	Aceite de Canola	Harina de Pescado
Saturados			
14:0	6.9	0.1	7.0
15:0	0.4	0.1	0.8
16:0	17.7	10.0	32.6
17:0	0.8	0.1	1.2
18:0	3.4	3.6	7.8
20:0	4.0	0.7	2.6
22:0	0.0	ND	0.7
Monoinsaturados			
16:1n-7	8.4	0.1	7.2
18:1n-9	26.8	40.9	17.4
20:1n-9	0.5	0.1	0.3
22:1n-9	ND	0.4	ND
Poliinsaturados			
18:2n-6	6.3	38.46	17.4
18:3n-6	0.2	0.47	0.4
18:3n-3	2.2	5.08	1.2
20:3n-9	0.3	ND	2.1
20:4n-6	1.1	ND	0.1
20:5n-3	17.1	ND	13.9
22:2n-6	0.1	ND	0.3
22:6n-3	4.1	ND	2.6
∑ Saturados	33.1	14.6	52.7
∑ Monoinsaturados (MUFA)	35.7	41.4	24.9
∑ Poliinsaturados (PUFA)	31.2	44.01	22.4
∑ n-3	23.3	5.08	17.7
∑ n-6	7.7	38.93	2.6
n-3/n-6	3.0	0.1	6.9

El perfil de ácidos grasos de las dietas experimentales se expone en la Tabla 9. Como se esperaba, los grupos mayoritarios de ácidos grasos se vieron afectados por la fuente de lípidos.

La concentración de los ácidos grasos saturados mostró cierta tendencia a disminuir conforme se aumentaba la cantidad de aceite de canola en las dietas. El ácido palmítico (16:0) aportó la mayor parte de los ácidos grasos saturados, seguido del ácido mirístico (14:0), se observa una clara disminución de estos 2 ácidos grasos conforme se incrementó la cantidad de aceite de canola.

En cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados, se observa lo contrario a lo que sucedió en los ácidos grasos saturados, los valores se incrementaron de 30.45% a 53.28%, de la dieta 0% a 100% canola, siendo el ácido oleico (18:1n-9) el responsable de este aumento, esto es lógico dado que el aceite de canola es rico en este ácido graso (Eskin y McDonald, 1991; Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003; Turchini *et al.*, 2009).

En lo que respecta a los ácidos grasos poliinsaturados, es posible apreciar una disminución en el porcentaje de estos al aumentar la concentración del aceite de canola, la principal razón de esto es que el aceite de pescado contiene una cantidad mayor de PUFA's en comparación con el aceite de canola, en especial EPA y ácido DHA. Por tal razón, a pesar de que el aceite de canola es rico en PUFA's (ácido linoleico y ácido linolénico), hubo una disminución neta de PUFA's en las dietas a medida que se incluyó aceite de canola.

En cuanto a la cantidad total de ácidos grasos n-3, se aprecia una reducción de casi 3 veces, de la dieta 0% canola a la dieta 100% canola, debiéndose esto a la reducción en el contenido de EPA y DHA. Por el contrario, la cantidad total de ácidos grasos n-6 tuvo un incremento (10.74 a 17.94%), siendo el ácido linoleico el principal responsable, sin embargo, dicho incremento no fue tan dramático como la reducción de los ácidos grasos n-3.

**Tabla 9.** Perfil de ácidos grasos(% del total de ácidos grasos) de las dietas experimentales.

Ácido graso	0% Canola	25% Canola	50% Canola	100% Canola
<b>Saturados</b>				
14:0	5.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.5 ± 0.3 <sup>c</sup>	1.6 ± 0.3 <sup>d</sup>
15:0	0.5 ± 0.0	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0
16:0	20.1 ± 0.9 <sup>a</sup>	18.8 ± 2.7 <sup>a</sup>	14.8 ± 1.2 <sup>b</sup>	11.6 ± 1.2 <sup>c</sup>
17:0	1.3 ± 1.2	0.9 ± 2.7	4.9 ± 0.2	0.3 ± 0.1
18:0	1.3 ± 0.2 <sup>c</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>d</sup>	4.0 ± 7.9 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.0 <sup>b</sup>
20:0	0.4 ± 0.0	1.4 ± 0.1	2.7 ± 0.0	1.8 ± 0.0
22:0	3.4 ± 2.7 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.6 <sup>b</sup>	1.5 ± 3.7 <sup>c</sup>	0.1 ± 2.4 <sup>d</sup>
<b>Monoinsaturados</b>				
16:1n-7	6.6 ± 0.7 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.3 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.7 <sup>c</sup>	1.7 ± 1.2 <sup>d</sup>
18:1n-9	23.6 ± 0.2 <sup>c</sup>	32.9 ± 0.0 <sup>b</sup>	36.5 ± 0.3 <sup>b</sup>	51.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
20:1n-9	0.3 ± 0.3	0.5 ± 1.2	0.3 ± 0.1	0.1 ± 0.1
<b>Poliinsaturados</b>				
18:2n-6	5.5 ± 0.2 <sup>d</sup>	7.8 ± 1.8 <sup>c</sup>	10.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	16.8 ± 0.3 <sup>a</sup>
18:3n-6	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.0 <sup>a</sup>
18:3n-3	1.8 ± 0.1 <sup>d</sup>	2.5 ± 0.5 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.3 <sup>b</sup>	5.6 ± 0.0 <sup>a</sup>
20:3n-9	1.1 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.4	0.6 ± 0.0
20:4n-6	0.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.6 ± 1.4 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0 <sup>b</sup>
20:5n-3	11.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	9.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	8.2 ± 0.8 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.1 <sup>c</sup>
22:2n-6	1.9 ± 1.1	1.5 ± 0.9	0.5 ± 0.6	0.6 ± 0.4
22:6n-3	12.2 ± 1.5 <sup>a</sup>	9.8 ± 1.1 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.5 <sup>c</sup>	0.7 ± 0.3 <sup>d</sup>
Σ Saturados	32.3 ± 1.3 <sup>a</sup>	29.2 ± 4.2 <sup>a</sup>	31.7 ± 6.4 <sup>a</sup>	18.7 ± 1.6 <sup>b</sup>
Σ Monoinsaturados (MUFA)	30.5 ± 2.0 <sup>c</sup>	36.5 ± 3.4 <sup>b</sup>	41.0 ± 3.9 <sup>b</sup>	53.3 ± 2.3 <sup>a</sup>
Σ Poliinsaturados (PUFA)	37.2 ± 0.7 <sup>a</sup>	34.3 ± 0.8 <sup>a</sup>	27.3 ± 2.7 <sup>b</sup>	28.0 ± 1.2 <sup>b</sup>
Σ n-3	25.3 ± 0.9 <sup>a</sup>	21.5 ± 1.5 <sup>b</sup>	14.2 ± 1.6 <sup>c</sup>	9.5 ± 0.4 <sup>d</sup>
Σ n-6	10.7 ± 1.3 <sup>b</sup>	12.5 ± 2.1 <sup>b</sup>	12.4 ± 1.3 <sup>b</sup>	17.9 ± 0.8 <sup>a</sup>
n-3/n-6	2.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>d</sup>
Lípidos totales	13.9 ± 0.1	14.1 ± 0.0	14.7 ± 0.0	14.8 ± 0.4

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Superíndices diferentes en las filas indican diferencias significativas (P<0.05).

### 6.3 Análisis de Composición Proximal de los Peces

En la Tabla 10 se presenta la composición proximal de los peces al final de la primera fase del experimento, la cual presentó diferencias significativas entre tratamientos. Los peces alimentados con las dietas 25% y 50% canola no mostraron diferencias entre ellos en cuanto al contenido de humedad y ceniza; pero si fueron diferentes de los peces de los tratamientos 0% y 100% canola. Los peces del tratamiento 100% canola tuvieron una cantidad de lípidos mucho menor que los demás grupos.

En lo que respecta a la proteína, los peces de 0% y 25% canola no tuvieron diferencias entre ellos; 50% y 100% canola fueron ligera pero significativamente menores de los dos primeros.

**Tabla 10.** Composición proximal (% base húmeda) de los peces alimentados con diferentes niveles de sustitución de aceite de pescado por aceite de canola.

Tratamiento	Proteína	Lípidos	Ceniza	Humedad
Inicial	18.6 ± 0.1	9.7 ± 0.0	6.1 ± 0.1	65.0 ± 0.5
0% Canola	18.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	10.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	5.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	65.3 ± 0.2 <sup>a</sup>
25% Canola	18.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.5 ± 0.2 <sup>b</sup>	5.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	64.2 ± 0.3 <sup>b</sup>
50% Canola	18.2 ± 0.2 <sup>b</sup>	12.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	63.7 ± 0.2 <sup>b</sup>
100% Canola	18.2 ± 0.1 <sup>c</sup>	8.9 ± 0.2 <sup>c</sup>	5.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	66.3 ± 0.2 <sup>c</sup>

Los valores representan las medias ± su desviación estándar. Superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

En diversos estudios donde se ha probado la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales no se ha encontrado que la fuente de lípidos del alimento ocasione algún efecto en la composición proximal. Raso y Anderson (2003) realizaron un experimento para probar si la composición proximal del barramundi (*Lates calcarifer*) se veía afectada al cambiar la fuente de lípidos (aceite de pescado), por aceites de soya, canola y linaza, en un 33%, 66% y 100%, al finalizar el experimento no se encontró diferencia alguna en la composición proximal entre los diferentes grupos. (Glencross *et al.*, (2003) encontraron que inclusive una sustitución del 100% por aceite de canola en el alimento del *Pagrus auratus*, no afecta la composición proximal de los peces. En el pargo japonés (*P. major*) se logró sustituir el 70% del aceite de pescado por aceite de canola, sin afectar la composición proximal (Huang *et al.*, 2007). Fountounlaki *et al.*, (2009) en un trabajo con dorada *S. aurata*, probaron la sustitución en un 69% con aceite de soya, palma y canola, sin obtener ningún efecto en la composición proximal. Trabajos donde se encontraron resultados similares, son los de Dosanjh *et al.*, (1984) y (1988), con salmón Coho (*O. kisutch*) y salmón Chinook (*O. tshawytscha*) respectivamente; Dosanjh *et al.*, (1998) con salmón del atlántico (*S. salar*); Caballero *et al.*, (2002) con trucha arcoiris (*O. mykiss*); Higgs *et al.*, (2006) en salmón del Atlántico (*S. salar*); Subhadra *et al.*, (2006) con lubina negra (*Micropterus salmoides*); Shapawi *et al.*, (2008) con mero jorobado (*Cromileptes altivelis*), por mencionar algunos.

Sin embargo, en varios estudios se han presentado diferencias en la composición proximal de los peces al utilizar aceites de origen vegetal. Grant *et al.*, (2008) reportaron diferencias en la composición proximal del cuerpo entero de salmones (*S. salar*) al utilizar diferentes niveles de aceite de canola, pero dado que no se observó ningún patrón o tendencia clara, se concluyó que dichas diferencias no se debían a las dietas experimentales. En otro estudio con *S. salar*, Bell *et al.*, (2001) observaron una modesta disminución en la cantidad de lípidos de los filetes de los peces conforme se aumentaba la concentración de aceite vegetal en dieta. Este resultado concuerda con lo obtenido por Rosenlund *et al.*, (2001), ellos reportaron que al reemplazar un 50% con aceite



de canola ó aceite de linaza, había una ligera disminución en la cantidad de lípidos de los filetes de salmón (*S. salar*), sin embargo, este resultado no se obtuvo al utilizar aceite de soya, el cual no tuvo diferencias con el control. Por su parte, Villa-López (2009), en un experimento con botete diana (*S. annulatus*), reportó que la cantidad de lípidos de los peces fue menor al sustituir aceite de pescado con aceite de canola en un 90%, utilizando proteína de origen animal, por el contrario este resultado no se obtuvo al utilizar proteína de origen vegetal.

Shearer (1994) menciona que la composición proximal de los peces puede variar bastante entre individuos y ésta puede ser afectada por factores endógenos y exógenos, entre los factores endógenos se encuentran el tamaño, sexo y ciclo de vida, los factores exógenos son dieta, temperatura, salinidad, etc. También menciona, que los lípidos y la humedad están inversamente relacionados, en este trabajo se observó dicha relación, y fue mucho más evidente en el tratamiento 100% canola, donde los peces mostraron una cantidad de agua mucho mayor y una concentración de lípidos mucho menor con respecto a los demás tratamientos. Villa-López (2005) observó una situación similar en esta misma especie de pargo con peces de talla similar, en un experimento donde se probaron diferentes niveles de lípidos en dieta, al aumentar la cantidad de grasa en la dieta, esta ocasionó un incremento de grasa en los tejidos de los peces mientras que por otro lado, causó una disminución en el contenido de humedad.

Dado que no existe evidencia clara de que la fuente de lípidos afecta la composición proximal, no es posible concluir con certeza que el resultado obtenido es debido a la inclusión de aceite de canola.

En cuanto a la composición proximal de los peces al finalizar la segunda fase del estudio, solo se encontraron diferencias significativas en la concentración de proteína, siendo los peces de los grupos 0 y 25% canola, los que presentaron mayor cantidad de proteína (Tabla 11).

**Tabla 11.** Composición proximal (% base húmeda) de los peces después de la dieta de finalización.

<b>Tratamiento previo</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Ceniza</b>	<b>Humedad</b>
0% Canola	19.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	13.2 ± 1.8	5.1 ± 0.4	60.8 ± 1.3
25% Canola	19.0 ± 0.4 <sup>ab</sup>	14.7 ± 1.0	4.8 ± 0.6	60.3 ± 0.5
50% Canola	18.1 ± 0.5 <sup>bc</sup>	16.1 ± 2.0	4.9 ± 0.1	60.4 ± 1.2
100% Canola	18.0 ± 0.3 <sup>c</sup>	13.8 ± 0.9	4.8 ± 0.2	62.5 ± 1.4

Los valores representan las medias ± su desviación estándar. Superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

En cuanto a los lípidos, se observó una mayor concentración en todos los grupos en comparación con lo obtenido en la primera parte del experimento, mientras que la humedad presentó una disminución. Esto concuerda con lo encontrado por Jobling *et al.*, (2008) en un experimento similar con bacalao del atlántico *Gadus morhua*, donde se observó un aumento de lípidos conforme el paso del tiempo, ya que los peces presentaron una cantidad de grasa mayor después de la dieta de finalización a la que tenían al finalizar la alimentación con aceites vegetales. Shearer (1994) y Guillaume *et al.*, (2004) mencionan que es un fenómeno común que los peces acumulen más grasa y presenten menor contenido de humedad conforme mayor edad.

#### 6.4 Parámetros de Crecimiento y Eficiencia del Alimento durante la Primera Fase del Estudio

No se encontraron diferencias en el peso al final de los peces de la primera fase del estudio. Aunque numéricamente, los grupos 25% y 100% canola en promedio tuvieron los menores pesos finales. En cuanto al incremento en peso,

tampoco se detectaron diferencias significativas entre los peces de los distintos tratamientos; sin embargo, el menor incremento se obtuvo con el tratamiento con 100% de sustitución (Tabla 12).

La TC no presentó diferencias entre los peces de los distintos grupos. Lo mismo se observó para la TCE, la cual se mantuvo entre 0.6-0.7 para los primeros 3 tratamientos, y fue de 0.5 para el tratamiento de 100% Canola (Tabla 12).

En cuanto a los parámetros de eficiencia del alimento, se obtuvieron resultados similares para todos los tratamientos. El mayor FCA fue de 2.4 para el tratamiento 100% Canola, pero este no fue significativamente diferente de los valores obtenidos para los otros peces. En cuanto a la TEA y la TEP se observó el mismo patrón que en FCA, sin detectar diferencias significativas; en los pargos alimentados con la dieta 100% canola se encontró la menor eficiencia alimenticia así como la mayor TEP (Tabla 12). Los valores del FCA obtenidos son considerablemente más bajos que los obtenidos por Villa-López (2005), quien reporta factores de conversión alimenticia de 3 a 4 en ejemplares de pargo lunarejo de talla similar, alimentados con diferentes niveles de aceite de pescado; Castillo-Vargasmachuca *et al.*, (2007) también reportan valores de FCA de entre 1.8 y 2, muy parecidos a los logrados en el presente trabajo; para la TCE, se obtuvieron valores ligeramente menores en comparación con el estudio de Castillo-Vargasmachuca *et al.*, (2007), donde se mencionan TCE de entre 1 y 1.2 % día<sup>-1</sup>. El Índice Hepatosomático del pez no mostró diferencias entre tratamientos, del mismo modo, la supervivencia no pareció verse afectada por ninguno de los tratamientos (Tabla 12).

Los parámetros de crecimiento obtenidos son similares a los reportados por Rodríguez-Moreno (2009) para esta misma especie de pargo en peces de la misma talla a la utilizada en el presente trabajo, este autor reportó una TCE de 0.8 y un FCA de 2.4, utilizando una dieta cuya formulación contenía un 40% de aceite de canola. Por otro lado, Preciado-Iñiguez (2010) logró factores de conversión alimenticia tan bajos como de 1 a 1.7 para la misma especie de pargo, así como una TCE de 1 a 2.2% día<sup>-1</sup>, pero es importante recalcar, que en

este último trabajo se utilizaron organismos con un peso inicial de 15 gramos, lo que puede explicar el crecimiento más rápido así como la asimilación más eficaz del alimento.

**Tabla 12.** Parámetros de crecimiento, eficiencia del alimento, índice hepatosomático y supervivencia de los peces al final de la primera fase del estudio.

Parámetros	Tratamientos			
	0% Canola	25% Canola	50% Canola	100% Canola
Peso inicial (g)	78.4 ± 1.5	74.5 ± 2.6	77.7 ± 1.0	77.1 ± 2.8
Peso final (g)	153.7 ± 1.8	133.1 ± 2.7	142.5 ± 12.1	130.6 ± 1.1
Incremento en peso (g)	74.2 ± 3.4	58.6 ± 2.6	64.8 ± 12.0	53.40 ± 3.6
TC(%)	194.8 ± 6.1	178.7 ± 5.1	183.4 ± 15.2	169.5 ± 8.2
TCE (%día <sup>-1</sup> )	0.7 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.0
Consumo diario (g/pez)	1.5 ± 0.0	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.2 ± 0.1
FCA	2.0 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.1	2.4 ± 0.2
TEA	49.6 ± 2.2	47.3 ± 4.3	49.3 ± 2.3	42.7 ± 3.2
TEP	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.1 ± 0.1
Índice hepatosomático	0.9 ± 0.1	0.71 ± 0.1	0.89 ± 0.1	1.02 ± 0.3
Supervivencia	100.0 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	97.2 ± 2.78

Los valores representan las medias ± desviación estándar.

Los resultados obtenidos en el crecimiento son respaldados por trabajos de diversos autores sobre el reemplazo del aceite de pescado. Entre las primeras investigaciones donde se logró una sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales se encuentran los Dosanjh *et al.*, (1984, 1988 y 1998) en el salmón coho (*O. kisutch*), salmón Chinook (*O. tshawytscha*) y salmón del Atlántico (*S. salar*), respectivamente; en dichos estudios se observó que el aceite de canola tiene un gran potencial como reemplazo del aceite de pescado en dietas para salmónidos ya en ninguno de estos se vieron afectados los

parámetros de crecimiento y eficiencia del alimento. En general, en peces salmónidos se puede lograr la sustitución completa del aceite de pescado sin problemas en crecimiento; Bell y colaboradores presentan una serie de estudios hechos en salmón del Atlántico utilizando no solo aceite de canola como sustituto, sino también aceite de linaza y palma, en donde reportan que es posible la sustitución total por estos casos aceites sin perjudicar el crecimiento y la utilización del alimento en los peces (Bell *et al.*, 2001a; 2001b; 2003a; 2003b; 2004). Grant *et al.* (2008) apoya estos resultados sugiriendo que esto se debe en gran medida a que en su medio natural, los salmones juveniles en el agua dulce están expuestos a fuentes de ácidos grasos con un perfil muy similar a los de los aceites vegetales, rico en ácidos linoleico y linolénico, ya que las presas que ingieren (pequeños insectos, crustáceos y otros peces pequeños de agua dulce) son ricas en estos ácidos grasos, de tal manera que los salmones mantienen la capacidad para metabolizar y utilizar estos ácidos grasos, aún en su etapa adulta.

En peces estrictamente marinos también se han obtenido muy buenos resultados. Izquierdo *et al.*, (2003) lograron una sustitución del 60% con aceite de canola, aceite de soya y aceite de linaza, tanto en dorada *S.aurata* como en lubina europea *D. labrax*, los peces alimentados con aceites vegetales no presentaron diferencias respecto al control en cuanto a ganancia en peso y conversión del alimento. Sin embargo, los autores resaltan que es importante mantener una inclusión de aceite de pescado lo suficientemente alta para que la concentración de HUFA en la dieta satisfaga los requerimientos de los peces, en este caso un 3% del total de los lípidos en dieta, Montero *et al.*, (1996) recomiendan que *Sparus aurata*, necesita un 3% de HUFA en la dieta para satisfacer sus requerimientos. De acuerdo con Sargent *et al.*, (1995), los requerimientos de ácidos grasos en peces marinos son cubiertos con EPA y DHA, y estos deben formar entre 1 y 3% de los lípidos totales de la dieta dependiendo de la especie.

Los resultados obtenidos en este estudio también concuerdan con los de Glencross *et al.*, (2003a) en el pargo australiano (*P. auratus*), ellos reportan que la sustitución total con aceite de canola refinado, no afecta la ingesta de alimento, la ganancia en peso ni la utilización del alimento, sin embargo, el uso de aceite de canola crudo en un 100% si perjudica el crecimiento más no la conversión del alimento.

Huang *et al.*, (2007) lograron la sustitución total del aceite de pescado por aceite de canola en la dieta para la engorda del pargo japonés *P. major*, la dieta se formuló de tal forma que el 70% de los lípidos provenían del aceite de canola y el resto de la harina de pescado; los autores señalan que tal cantidad de grasa en la harina de pescado, era suficiente o marginal para cubrir los requerimientos de los peces, ya que se observó cierta tendencia a que el crecimiento y la utilización del alimento disminuyera conforme se aumentaba la cantidad de aceite de canola, aunque dicha tendencia no fue significativa.

En un trabajo más reciente, con botete diana *S. annulatus*, un pez tropical al igual que el pargo *L. guttatus*, se encontró que el aceite de canola puede sustituir el 91% del aceite pescado siempre y cuando la fuente de proteína sea de origen animal (harina de pescado), ya que si se utiliza concentrado de proteína de soya como fuente de proteína, el crecimiento y el aprovechamiento del alimento de los peces se ven afectados, y esto se debe en gran medida a la deficiencia de ácidos grasos esenciales como los omega-3 (Villa-López, 2009).

Se ha reportado que la anguila europea (*Anguilla anguilla*) crece sin problemas al ser alimentada con dietas con aceite de maíz, sin embargo, la sustitución con aceite de soya si afecta el crecimiento, el factor de conversión alimenticia con aceite de pescado fue de 1.8, mientras que con la dieta con aceite de soya este aumento hasta 4.5 (Luzzana *et al.*, 2003). En barramundi (*Lates calcarifer*) el reemplazo completo con aceite de soya y con aceite de canola afectó negativamente el crecimiento, sin embargo, la sustitución parcial no tuvo el mismo efecto (Turchini *et al.*, 2009).

En el presente estudio, las dietas 0, 25 y 50% canola presentaron un contenido de EPA+DHA de 23.6, 18.9 y 10.7% respectivamente, dichos valores están por encima de los requerimientos para peces sugeridos por Sargent *et al.*, (1995) y por lo tanto se puede suponer que estas dietas cubren sin problemas los requerimientos de EPA y DHA del pargo lunarejo *L. guttatus*. Sin embargo, la dieta 100% Canola presentó un contenido de EPA+DHA de 3.9% mucho más bajo que los demás tratamientos, esto se puede relacionar con el peso final y tasa de crecimiento específico más bajo, así como con el factor de conversión alimenticia más alto obtenido en los peces alimentados con la dieta 100% canola, aunque éstos no hayan sido diferentes estadísticamente, esto puede indicar que probablemente la dieta 100% canola no cubría los requerimientos de n-3 HUFA satisfactoriamente. Otra posible explicación es que tanto la atractabilidad así como la palatabilidad de la dieta 100% canola se hayan visto alteradas de manera negativa, resultando menos atractiva para los peces y por tanto en un menor consumo; aunque el presente estudio no tuvo como objetivo evaluar la atractabilidad de las dietas, fue posible observar que los peces alimentados con la dieta 100% presentaban menos interés en el alimento en contraste con los alimentados con las otras dietas (observación personal). A este respecto, Sargent *et al.*, (1999) mencionan que los alimentos con un alto contenido de grasa resultan más atractivos para los peces en el medio silvestre, relacionando esto con el alto contenido de ácidos grasos omega-3. Además, Patterson *et al.*, (2009) menciona que ejemplares de trucha arcoíris son capaces de discriminar entre alimentos con aceites de origen vegetal y alimentos hechos a base de aceite de pescado. En síntesis, es importante tener precaución con los datos obtenidos, ya que de haber continuado el experimento por más tiempo, es posible que el crecimiento y la utilización del alimento de los peces alimentados con la dieta 100% canola hubieran sido diferentes estadísticamente.

## 6.5 Parámetros de Crecimiento y Eficiencia del Alimento de la Segunda Fase del Estudio

Se encontraron diferencias significativas en el peso final, el menor peso se obtuvo en el grupo previamente alimentado con la dieta 25% canola, este tratamiento solo fue diferente del control (0% canola) más no de los grupos 50 y 100% canola. A pesar de los resultados obtenidos en el incremento en peso, no hubo diferencias significativas en este parámetro (Tabla 13).

El crecimiento y utilización del alimento fue muy similar entre los peces de los diferentes tratamientos, además de que los valores fueron prácticamente los mismos que los obtenidos en la primera fase. Esto era un resultado esperado, ya que se dio la misma dieta a todos los grupos. La TC se mantuvo entre 160% y 178% entre los diferentes tratamientos, sin diferencias estadísticamente significativas. Del mismo modo, para la TCE se obtuvieron valores cercanos a los de la primera fase, sin presentar diferencias significativas entre dietas. El FCA tampoco mostró diferencias significativas entre grupos, en esta parte, se logró mejorar el FCA para el grupo 100% canola. La TEA y la TEP presentaron la misma tendencia que FCA, sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre grupos, lográndose una mejora para estos parámetros para el grupo 100% canola. El índice hepatosomático se mantuvo sin diferencias entre tratamientos, al igual que la supervivencia, ésta se mantuvo en 100% para todos los grupos (Tabla 13).



**Tabla 13.** Parámetros de crecimiento, eficiencia del alimento, índice hepatosomático y supervivencia de los peces al final de la segunda fase del estudio.

Parámetros	Tratamientos			
	0% Canola	25% Canola	50% Canola	100% Canola
Peso inicial (g)	159.7 ± 1.5 <sup>a</sup>	132.7 ± 2.5 <sup>b</sup>	141.6 ± 1 <sup>a</sup>	133.3 ± 2.8 <sup>b</sup>
Peso final (g)	271.4 ± 9.4 <sup>a</sup>	212.6 ± 8.9 <sup>b</sup>	247.4 ± 27.7 <sup>ab</sup>	237.6 ± 22.6 <sup>ab</sup>
Incremento en peso (g)	111.8 ± 4.0	80.0 ± 10.8	106.2 ± 11.5	104.3 ± 16.0
TC (%)	170.1 ± 1.9	160.7 ± 9.3	175.1 ± 3.6	178.1 ± 7.6
TCE (%día <sup>-1</sup> )	0.6 ± 0.0	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.0
FCA	2.1±0.1	2.2±0.2	2.1±0.1	1.9±0.2
TEA	48.6±1.7	45.9±3.8	55.9±4.6	52.8±6.6
TEP	1.0±0.0	0.9±0.1	1.2±0.1	1.1±0.1
Índice hepatosomático	0.9±0.2	0.9±0.1	1.0±0.0	0.9±0.0
Supervivencia	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Superíndices diferentes indican diferencias significativas (P<0.05).

Los valores de utilización del alimento y eficiencia del alimento obtenidos en esta fase son más alentadores que los obtenidos por Villa-López (2005) para esta misma especie, quien reporta factores de conversión alimenticia de 3 a 4, y TEA de 24 a 34%, a diferencia de las obtenidas en el presente estudio, las cuales se situaron entre 1.9 a 2.2 para el FCA, y 45.9 a 55.9 para la TEA. Por otro lado, las TCE obtenidas, si fueron bastante cercanas a las logradas por Villa-López (2005) (TCE de 0.5% día<sup>-1</sup>) y por Rodríguez-Moreno (2009) (TCE de 0.8% día<sup>-1</sup>), sin embargo, estas fueron muchos más bajas que las reportadas por Castillo-Vargasmachuca *et al.*, (2007) y Preciado-Iñiguez (2010), quienes reportan tasas de crecimiento específico de entre 1 a 1.2 % día<sup>-1</sup> y 1 a 2.2 % día<sup>-1</sup>, respectivamente.

## 6.6 Efecto del Aceite de Canola en el Perfil de Ácidos Grasos del Músculo del Pargo Lunarejo

En la Tabla 14 se presenta el perfil de ácidos grasos del filete de los peces al final de la primera fase del experimento. Como se esperaba, las diferentes concentraciones de aceite de canola en dieta tuvieron un efecto en el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces, ya que éste reflejó en gran medida la composición de la dieta. Sin embargo, las variaciones en el perfil de ácidos grasos en las muestras de filete fueron menores a las encontradas en las dietas.

Las concentraciones de ácido mirístico (14:0) en los peces alimentados con las dietas 0% y 25% canola fueron significativamente mayores de los valores obtenidos para los peces alimentados con los tratamientos 50% y 100% Canola. Además, se encontró, que la concentración de 14:0 para los tratamientos 0% y 25% fue mayor a la inicial, lo que indica que hubo cierta acumulación. El ácido palmítico (16:0) también presentó diferencias significativas, el músculo de los peces alimentados con la dieta 100% canola mostró la menor concentración de este ácido graso, además de que dicho valor fue más bajo a la concentración inicial. Esto concuerda con lo encontrado por Glencross *et al.* (2003) en un estudio con *Pagrus auratus*, donde las concentraciones de ácido mirístico y ácido palmítico en filete disminuyeron conforme se aumentó el aceite de canola en dieta; en ejemplares de dorada *S. aurata* alimentados con dietas con un 60% de aceite de canola también se observó la misma tendencia (Izquierdo *et al.*, 2003 y 2005).

La concentración de ácido esteárico (18:0) en músculo fue mayor a la encontrada en las dietas. A pesar de las diferencias numéricas obtenidas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 14), además, la concentración de este ácido parece no haber sido afectada por la dieta. Lo mismo se ha reportado para otras especies en diversos estudios (Glencross *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2005;

Yuang *et al.*, 2007), esto se explica porque los peces al igual que todos los vertebrados son capaces de sintetizar de 18:0 (Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003 y Tocher , 2003).

De manera general, se observó una reducción en los niveles de ácidos grasos saturados (SFA) en el músculo de los peces conforme se incrementó el aceite de canola en la dieta. Los peces alimentados con la dieta 0% canola presentaron el mayor contenido de ácidos grasos saturados en el músculo.

**Tabla 14.** Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) del músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con diferentes niveles de aceite de canola.

Ácido graso	Dietas				
	Inicial	0% Canola	25% Canola	50% Canola	100% Canola
<b>SFA</b>					
14:0	2.5	3.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.4±0.4 <sup>a</sup>	2.6±0.2 <sup>b</sup>	2.2±0.4 <sup>b</sup>
15:0	0.3	0.4 ± 0.0	0.3±0.1	0.5±0.4	0.6±0.5
16:0	21.7	21.6 ± 0.9 <sup>a</sup>	21.5±1.6 <sup>a</sup>	20.4±0.7 <sup>ab</sup>	18.8±0.7 <sup>b</sup>
17:0	0.4	0.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.4±0.1 <sup>a</sup>	0.3±0.1 <sup>b</sup>	0.3±0.0 <sup>a</sup>
18:0	11.3	11.3 ± 1.2	9.3±1.7	9.0±3.7	11.9±3.1
20:0	0.44	0.4 ± 0.0	0.5±0.2	0.3±0.1	0.4±0.0
22:0	0.46	0.5 ± 0.1	0.4±0.2	0.6±0.2	0.7±0.1
<b>MUFA</b>					
16:1n-7	2.46	3.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	3.3±0.2 <sup>b</sup>	2.6±0.2 <sup>c</sup>	2.0±0.1 <sup>d</sup>
18:1n-9	18.3	17.5 ± 1.6 <sup>b</sup>	22.5 ± 1.3 <sup>a</sup>	22.0 ± 1.8 <sup>a</sup>	25.3 ± 2.4 <sup>a</sup>
20:1n-9	1.1	1.2 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>b</sup>
<b>PUFA</b>					
18:2n-6	13.2	7.9 ± 0.2 <sup>b</sup>	8.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	11.7 ± 1.2 <sup>b</sup>	14.1 ± 0.2 <sup>a</sup>
18:3n-6	3.1	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.5	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.0
18:3n-3	1.8	1.5 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.8 ± 0.0 <sup>c</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>b</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>a</sup>
20:3n-9	0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
20:4n-6	0.5	0.7 ± 1.3 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.7 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.0 <sup>b</sup>
20:5n-3	5.8	7.4 ± 0.4 <sup>a</sup>	6.1 ± 0.5 <sup>b</sup>	5.3 ± 0.3 <sup>c</sup>	3.8 ± 0.1 <sup>d</sup>
22:2n-6	2.1	2.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>c</sup>
22:6n-3	14.6	15.8 ± 1.7 <sup>ab</sup>	14.8 ± 1.6 <sup>b</sup>	16.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	12.0 ± 1.2 <sup>b</sup>
Σ SFA	37.1	38.4 ± 0.5 <sup>a</sup>	35.8 ± 0.6 <sup>b</sup>	34.1 ± 2.1 <sup>b</sup>	34.9 ± 1.5 <sup>b</sup>
Σ MUFA	21.8	22.5 ± 1.6 <sup>b</sup>	27.0 ± 1.4 <sup>a</sup>	25.6 ± 2.0 <sup>b</sup>	28.2 ± 2.5 <sup>a</sup>
Σ PUFA	41.1	39.1 ± 1.5 <sup>ab</sup>	36.8 ± 2.4 <sup>b</sup>	40.8 ± 1.1 <sup>a</sup>	36.9 ± 1.0 <sup>b</sup>
Σ n-3	22.1	24.8 ± 1.5 <sup>a</sup>	22.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	23.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	18.4 ± 1.2 <sup>b</sup>
Σ n-6	18.9	14.3 ± 0.2 <sup>c</sup>	14.6 ± 0.4 <sup>c</sup>	17.0 ± 1.2 <sup>b</sup>	18.5 ± 0.2 <sup>a</sup>
n-3/n-6	1.2	1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.2 <sup>ab</sup>	1.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	1 ± 0.1 <sup>c</sup>

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Superíndices diferentes en las filas indican diferencias significativas (P<0.05).

Los ácidos grasos monoinsaturados del músculo también reflejaron el contenido de ácidos grasos de la dieta (Tabla 14). El porcentaje de ácido palmítico (16:1n-7) mostró diferencias significativas entre todos los

tratamientos, siendo el grupo de 0% canola el que presentó la mayor cantidad, mientras que el grupo 100% canola fue menor. Respecto al contenido de ácido oleico (18:1n-9), los peces del tratamiento 0% canola presentaron la menor cantidad (17.5%), mientras que la mayor concentración se encontró en el grupo 100% canola (25.3%), sin embargo, las diferencias significativas sólo se encontraron entre el tratamiento 0% canola contra los demás tratamientos.

El contenido de ácido linoleico (18:2n-6) y de ácido linolénico (18:3n-3) en el músculo de los peces también presentó diferencias significativas, estos se incrementaron a medida que se aumentó la concentración de aceite de canola en la dieta (Tabla 14 y Figura 13). Como se esperaba, los peces del tratamiento 100% Canola presentaron la mayor cantidad de 18:2n-6 y 18:3n-3 en músculo. En algunas especies de peces marinos como el pargo australiano (*P. auratus*), dorada (*S. aurata*), mero jorobado (*C. altivelis*), lubina europea (*D. labrax*), se han observado cambios similares al ser alimentados con dietas altas en aceite de canola (Glencross *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2003 y 2005; Shapawi *et al.*, 2008); ya que el aceite de canola está conformado prácticamente por aceite oleico, linoleico y linolénico, en adición, la baja capacidad de los peces para desaturar y elongar los ácidos linoleico y linolénico en sus homólogos superiores, propicia la acumulación de estos ácidos grasos en los tejidos (Sargent *et al.*, 1995; Tocher, 2003).

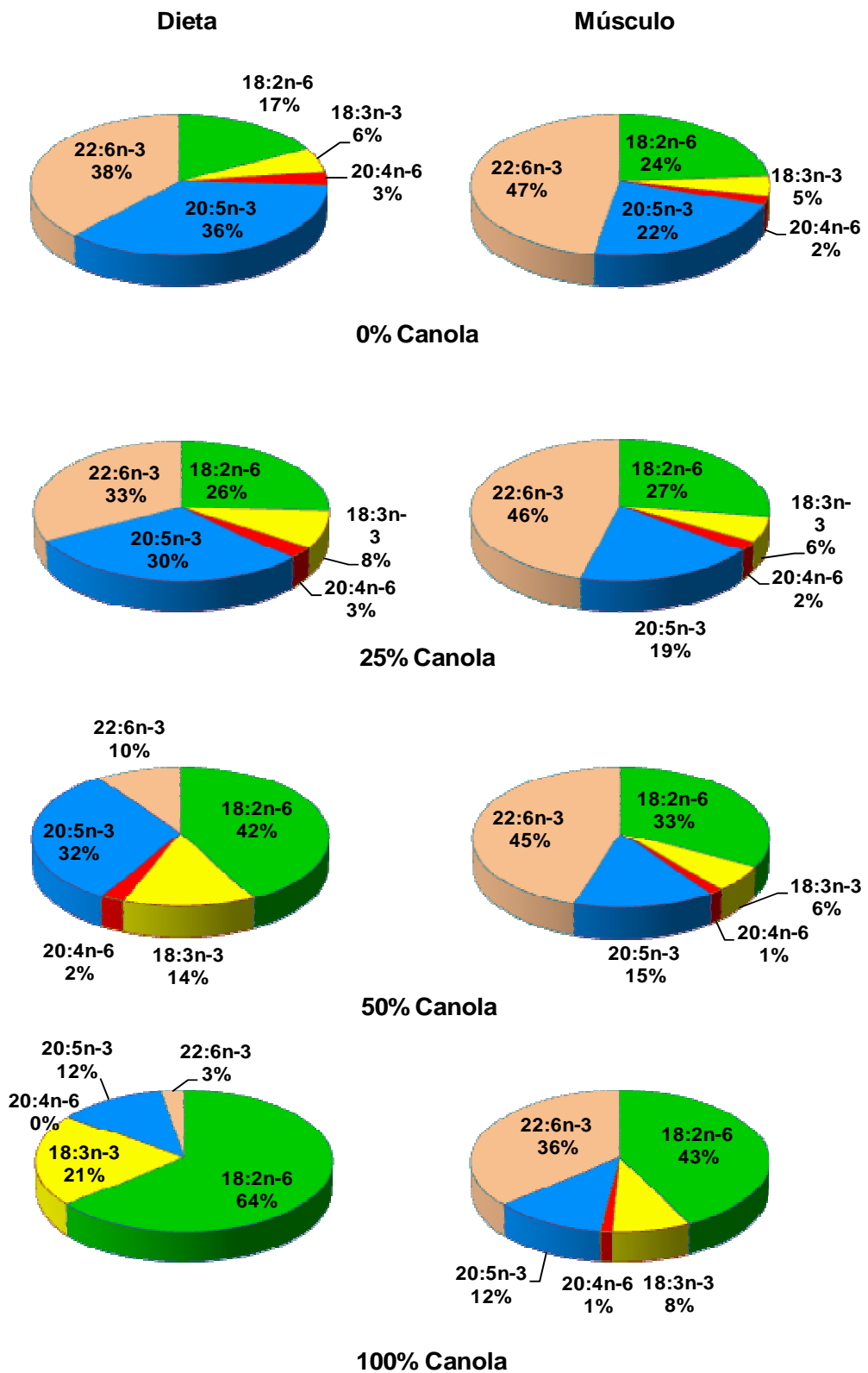
En lo que respecta al AA (20:4n-6), los tratamientos 0% y 25% canola fueron diferentes estadísticamente de los tratamientos 50% y 100% canola (Tabla 13). A pesar de que la dieta 100% Canola presentó una cantidad muy baja de ácido araquidónico (0.03%), el músculo de los peces alimentados con dicha dieta tuvo una concentración (0.4%) de más de 10 veces a la dieta. Resultados similares han sido encontrados por Shapawi *et al.*, (2008) en el mero jorobado (*C. altivelis*); y Izquierdo *et al.*, (2005) y Fountolaki *et al.*, (2009) en dorada (*S. aurata*), donde el músculo de los peces presentó una concentración de 20:4n-6 mayor a la dieta. La retención selectiva de este ácido graso resalta la importancia que tiene como nutriente esencial (Tocher *et al.*, 2003).

La cantidad de EPA (20:5n-3) en músculo tuvo diferencias significativas para todos los tratamientos, ésta fue disminuyendo gradualmente conforme el incremento de aceite de canola en dieta (Tabla 14 y Figura 13). El DHA (22:6n-3) tuvo ciertas diferencias significativas, sin embargo, los tratamientos 0%, 25% y 50% Canola mostraron cantidades bastante cercanas entre sí, el tratamiento 100% Canola fue el que presentó la cantidad más baja. La concentración de DHA en músculo fue mucho mayor a la presente en dieta, inclusive para los peces alimentados con la dieta 100% canola (Figura 13), resultados similares en cuanto a este patrón han sido obtenidos en otras especies de peces marinos como el mero *C. altivelis* y la dorada *S. aurata* (Shapawi *et al.*, 2008; Fountolaki *et al.*, 2009) Este hallazgo indica que existe una acumulación y retención selectiva de este ácido graso, lo cual se explica por la importancia que tiene este compuesto como componente de las membranas celulares. Además, la principal clase de lípidos encontrada en el músculo de los peces son los fosfolípidos, los cuales a su vez son ricos en DHA (Sargent *et al.*, 1999; Tocher, 2003). También se ha encontrado que EPA es preferido sobre DHA como sustrato para oxidación (Bell *et al.*, 2001a), lo cual concuerda con el decremento gradual de EPA en los diferentes tratamientos, más no de DHA.

En general, el músculo de los peces de los tratamientos 0%, 25% y 50%, presentaron cantidades similares de ácidos grasos n-3, mientras que los del tratamiento 100% canola presentaron la más baja. Con los ácidos grasos n-6 se puede apreciar lo contrario, los tratamientos 0 y 25% presentaron las concentraciones más bajas, los peces del tratamiento 100% canola tuvieron la más alta, mientras que los de la dieta 50% tuvieron una concentración intermedia.

Es importante notar que las concentraciones de ácido oleico (18:1n-9) en el músculo de los peces fueron menores a las dietas. Existe evidencia que indica que cuando el ácido oleico está presente en exceso, es preferido por sobre otros ácidos grasos como sustrato para la beta oxidación (Bell *et al.*, 2003a; 2003b), lo cual concuerda con lo encontrado en el presente trabajo, dado el

hecho de que la concentración en músculo fue mucho más baja a la presente en dieta. Por otro lado, la concentración de ácido linoleico (18:2n-6) en el filete fue más alta a la presente en dieta para la mayoría de los tratamientos, a excepción de los peces del tratamiento 100% Canola. Se ha reportado que el ácido linolénico es preferido para ser elongado y desaturado por sobre el ácido linoleico (Bell *et al.*, 1997), sin embargo, dado que los dos compiten por las mismas enzimas, el exceso de uno puede inhibir la metabolización del otro (Sargent *et al.*, 1995; Opsahl-Ferstad *et al.*, 2003; Tocher, 2003). En este caso, los peces alimentados con la dieta 100% canola mostraron una concentración menor de 18:2n-6 en el músculo a la presente en la dieta, esto puede indicar, que el ácido linoleico estaba siendo utilizado como sustrato para la formación de AA (20:4n-6), relacionándose esto con el alto contenido de este ácido graso en el músculo de los peces de la dieta 100% canola a pesar de que la dieta era prácticamente deficiente. Resultados similares se han encontrado en otros peces como el salmón del atlántico, trucha arcoíris, rodaballo y dorada (Bell *et al.*, 1997; Bell *et al.*, 2003a; Izquierdo *et al.*, 2005).



**Figura 13.** Influencia del aceite de canola en dieta sobre ácidos grasos poliinsaturados del músculo del pargo lunarejo.



## 6.7 Efecto de la Dieta de Finalización sobre el Perfil de Ácidos grasos del músculo del pargo lunarejo

Al finalizar la primera fase del experimento, se suministró la dieta 0% Canola a todos los grupos de peces por 12 semanas más, esto con el fin de observar el efecto de una dieta de finalización sobre el perfil de ácidos grasos en el músculo de pargo previamente alimentado con una dieta alta en aceite de canola (Tabla 15).

Como se aprecia en la Tabla 15, al final del experimento la mayoría de los ácidos grasos presentaron niveles muy similares entre todos los grupos. Se encontraron diferencias significativas solamente para dos ácidos grasos, el ácido linoleico y el ácido linolénico.

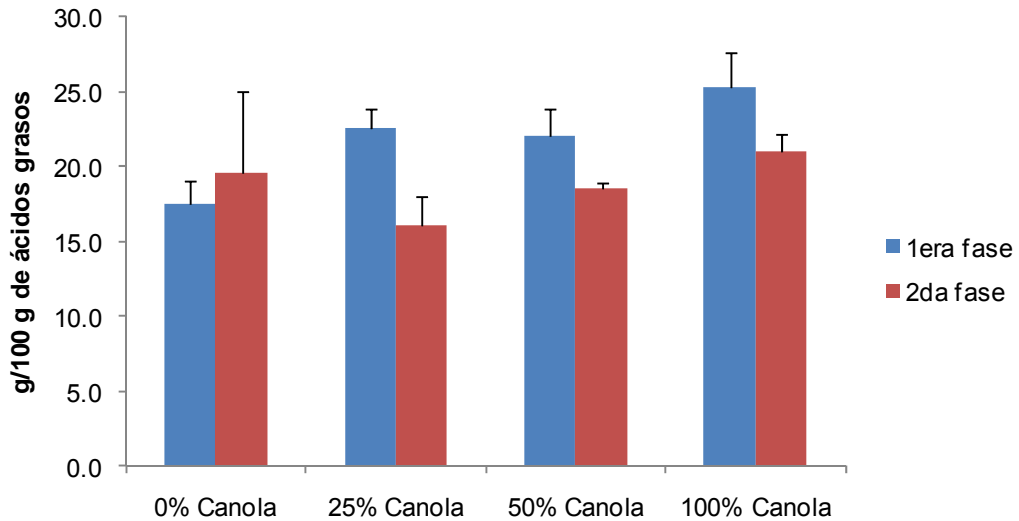
**Tabla 15.** Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) del músculo de los peces después de la dieta de finalización.

Ácido graso	Dietas			
	0% Canola	25% Canola	50% Canola	100% Canola
<b>SFA</b>				
14:0	3.6±0.7	3.8±0.7	3.6±0.4	3.4±0.4
15:0	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.0
16:0	22.6±1.7	22.3±1.1	21.7±1.8	21.0±1.7
17:0	0.6±0.2	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
18:0	12.3±0.9	14.3±2.2	12.4±0.6	13.5±1.0
20:0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0	0.4±0.0
22:0	0.5±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1
<b>MUFA</b>				
16:1n-7	3.9±0.6	3.8±0.6	3.7±0.3	3.4±0.2
18:1n-9	19.6±5.4	16.0±2.0	18.5±0.5	21.0±1.1
20:1n-9	1.1±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	0.9±0.0
<b>PUFA</b>				
18:2n-6	6.5±0.2 <sup>b</sup>	8.1±0.3 <sup>ab</sup>	8.3±0.6 <sup>ab</sup>	9.7±0.4 <sup>a</sup>
18:3n-6	2.6±0.4	2.8±0.1	2.8±0.2	2.7±0.2
18:3n-3	1.2±0.2 <sup>c</sup>	1.5±0.3 <sup>bc</sup>	1.7±0.2 <sup>b</sup>	2.1±0.0 <sup>a</sup>
20:3n-9	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1
20:4n-6	0.8±0.1	0.7±0.1	0.7±0.0	0.6±0.0
20:5n-3	7.0±1.4	6.6±0.2	6.7±0.3	5.8±0.3
22:2n-6	2.8±0.4	2.7±0.1	2.7±0.2	2.3±0.3
22:6n-3	14.2±1.8	14.5±2.6	14.3±1.1	11.8±0.8
Σ SFA	40.2±2.8	42.0±3.5	39.3±1.8	39.5±1.7
Σ MUFA	24.6±4.8	20.9±1.5	23.1±0.4	25.4±1.0
Σ PUFA	35.2±3.8	37.1±2.2	37.5±2.2	35.1±1.3
Σ n-3	22.4±3.1	22.6±2.6	22.7±1.4	19.7±1.0
Σ n-6	12.7±0.7 <sup>b</sup>	14.3±2.6 <sup>a</sup>	14.6±1.0 <sup>a</sup>	15.3±0.4 <sup>a</sup>
n-3/n-6	1.8±0.2 <sup>a</sup>	1.6±0.2 <sup>a</sup>	1.6±0.0 <sup>ab</sup>	1.3±0.1 <sup>b</sup>

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Superíndices diferentes en las filas indican diferencias significativas (P<0.05).

En la Figura 14 se presenta el porcentaje de ácido oleico (18:1n-9) durante las dos fases del experimento. Después de la dieta de finalización, las diferencias significativas entre tratamientos desaparecieron. Es posible notar que hubo una

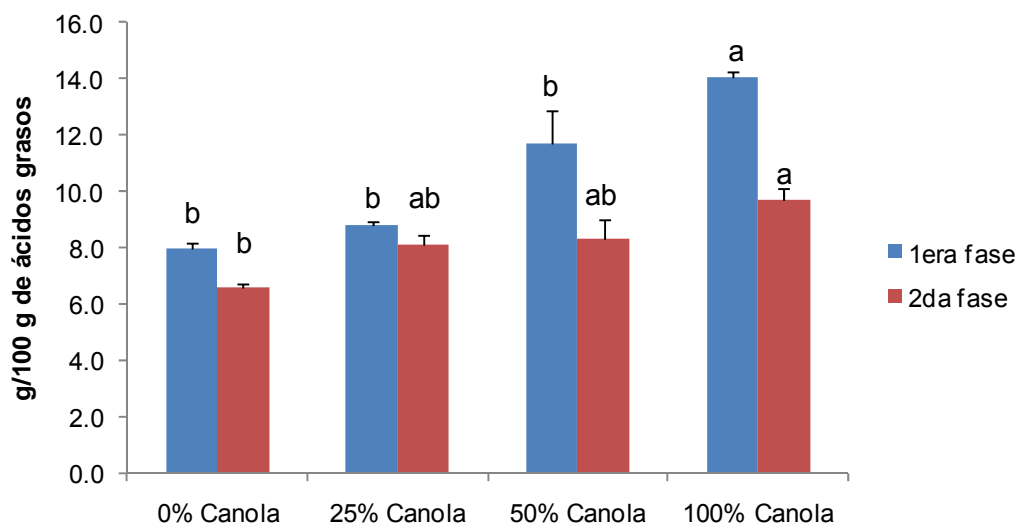
reducción de ácido oleico de alrededor del 20% en los grupos 25, 50 y 100% canola.



**Figura 14.** Contenido de ácido oleico (18:1n-9) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

El contenido de ácido linoleico (18:2n-6) mostró ciertos cambios. Aún después de la dieta de finalización se encontraron diferencias significativas, siendo el grupo previamente alimentado con la dieta 100% canola el que presentó la mayor cantidad, sin embargo, este resultado no fue diferente de los tratamientos 25% y 50% canola (Figura 15). Se puede apreciar claramente la reducción de ácido linoleico en todos los grupos, especialmente para los tratamientos 50% y 100%, las cuales fueron de 30 y 32% respectivamente en base a la concentración inicial. Este resultado concuerda con los obtenidos en otros estudios, Regost *et al.* (2003) reportan una reducción del 50%, empleando una dieta de finalización por 8 semanas en el rodaballo (*P. maxima*) previamente alimentado con aceite de soya o linaza. Bell *et al.* (2003) probaron

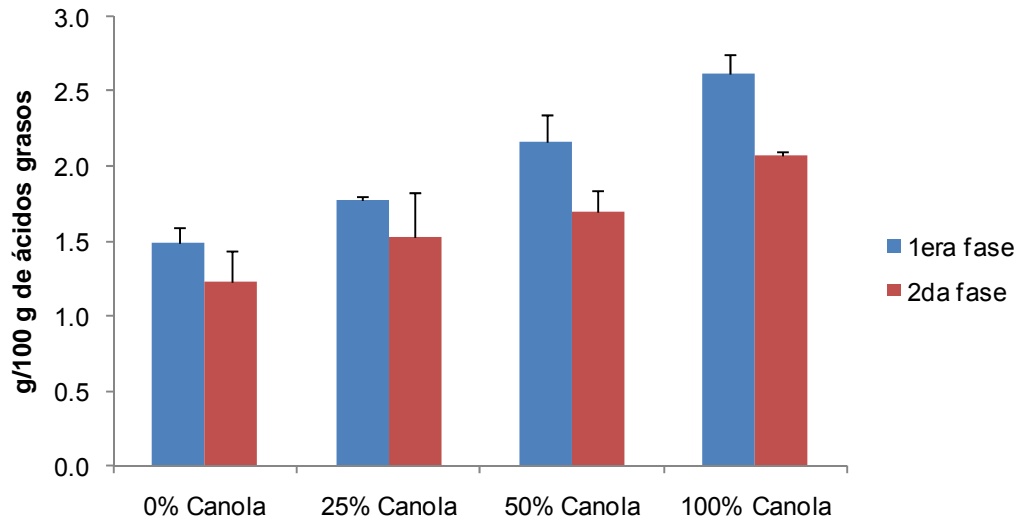
una dieta comercial por 12 semanas en ejemplares de *S. salar* engordados con una dieta 100% aceite de canola, logrando una reducción del 65% en el contenido de ácido linoleico. En lubina europea (*D. labrax*) engordada con aceites de soya y canola se logró reducir el contenido de ácido linoleico en un 36% (Montero *et al.*, 2005). En la dorada *S. aurata*, Izquierdo *et al.*, (2005) y Fountolaki *et al.*, (2009) reportan una reducción del 30% después de utilizar una dieta de finalización.



**Figura 15.** Contenido de ácido linoleico (18:2n-6) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

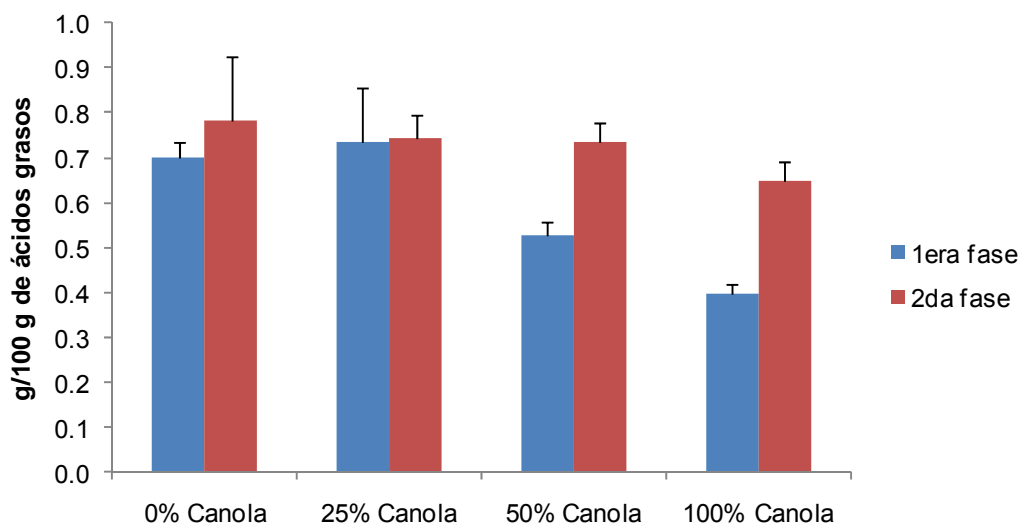
En la Figura 16 se muestran los cambios en la concentración de ácido linolénico (18:3n-3). Se mantuvo la misma tendencia durante las dos fases, similar a la del ácido linoleico. Sin embargo, es posible apreciar una reducción de alrededor del 20% en todos los tratamientos. Resultados similares se han para diversas especies como la dorada, pargo australiano, lubina europea, entre otras (Glencross *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2005). La principal razón por la que los ácidos linoleico y linolénico se acumulen en los tejidos, es que los peces poseen una capacidad muy baja para metabolizarlos, y por tanto,

al estar presentes en altas concentraciones en la dieta, estos tienden a acumularse (Sargent *et al.*, 1995; Tocher, 2003; Bell *et al.*, 2003).



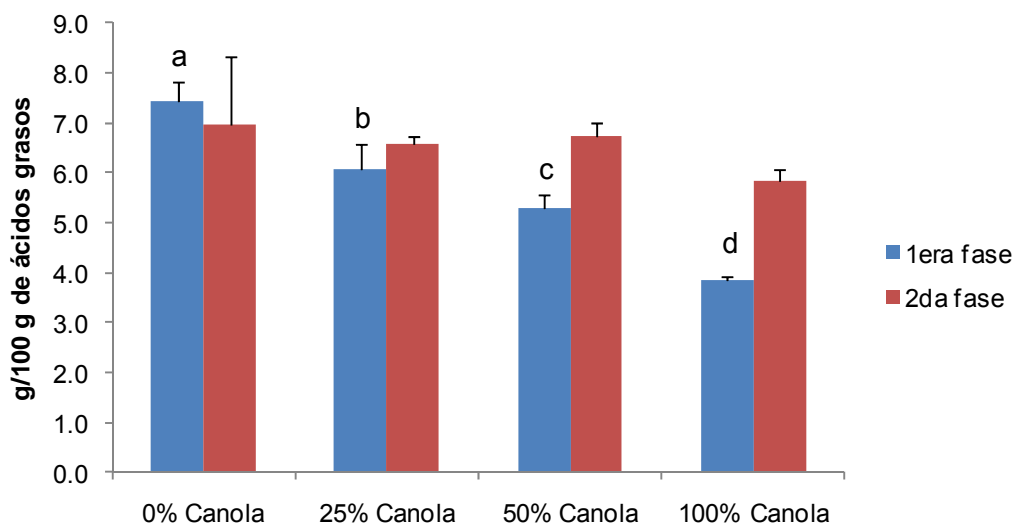
**Figura 16.** Contenido de ácido linolénico (18:3n-3) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

En lo que respecta al AA (20:4n-6), las diferencias significativas desaparecieron al terminar la dieta de finalización, lográndose una concentración muy similar para todos los grupos (Figura 17). Es importante notar el aumento en el contenido de ácido araquidónico que se presentó en los peces de los tratamientos 50% y 100% canola. Fountolaki *et al.*, (2009) observaron algo similar en dorada *S. aurata*, donde se recuperó en 20:4n-6 en un 57%. La eficacia para retener y acumular este ácido graso enfatiza la importancia que tiene como nutriente esencial.



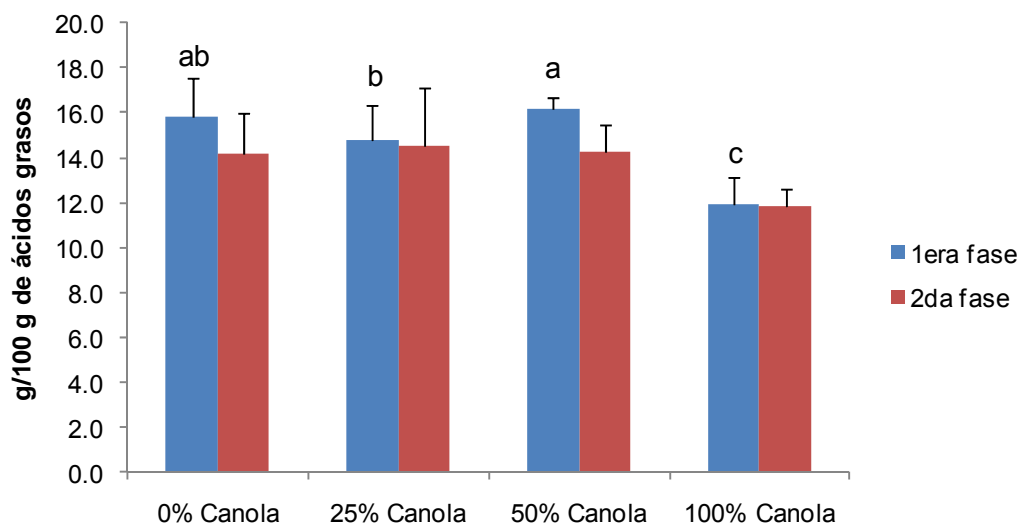
**Figura 17.** Contenido de ácido araquidónico (20:4n-6) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

La cantidad de EPA (20:5n-3) en el músculo de los pargos no mostró diferencias significativas al terminar la dieta de finalización (Figura 18). Se logró una recuperación de alrededor del 50% en el tratamiento 100% Canola. Bell et al., (2003) reporta también la recuperación de EPA a niveles normales en el salmón del Atlántico. En otras especies, como la dorada y el rodaballo, se han reportado recuperaciones de alrededor del 80%. Un motivo por el que los niveles de EPA no alcancen el mismo nivel que el grupo control, es la alta retención de 18:2n-6 y 18:3n-3, los cual se considera indeseable, ya que lo que se busca con una dieta de finalización es aumentar la proporción de HUFA omega -3 (DHA y EPA), así como disminuir el porcentaje de PUFA omega -6.



**Figura 18.** Contenido de ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

Por último, en la Figura 19, se muestra el contenido de DHA (22:6n-3) en el filete del pargo al final de las dos fases. Las concentraciones obtenidas fueron muy similares durante los dos periodos del estudio. Sin embargo, al concluir la dieta de finalización, ya no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Este resultado difiere con lo obtenido por Izquierdo *et al.*, (2005) y Fountoulaki *et al.*, (2009) en la dorada *S. aurata* y con Montero *et al.*, (2005) en la lubina *D. labrax*, donde no se logró recuperar totalmente la concentración de DHA. En dichos estudios, la engorda con aceites vegetales fue por periodos mayores a los del presente trabajo, causando una mayor disminución en el porcentaje de DHA a la registrada en este estudio, esto se relaciona con que no se haya podido lograr una recuperación total de DHA después de emplear la dieta de finalización con aceite de pescado.



**Figura 19.** Contenido de ácido docosahexaenoico (22:6n-3) en el músculo de pargo *L. guttatus* alimentado con aceite de canola por 14 semanas y después de la dieta de finalización. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.5$ ) entre los grupos a determinado tiempo.

La ingesta diaria de EPA+DHA recomendada por la American Heart Association (2010) es de 500mg para personas saludables, de 1 gramo para personas con enfermedad coronaria del corazón, y de 3 a 4 gramos para personas con triglicéridos elevados. El pescado es reconocido como una de las principales fuentes de estos ácidos grasos, los cuales aportan una inmensa cantidad de beneficios a la salud (Simopoulos, 2002a, 2002b; Marszalek y Lodish, 2005; Lee *et al.*, 2008).

Si bien el pargo no es reconocido como un pescado grasoso como el salmón o el arenque, la calidad de sus lípidos debe ser mantenida para proveer un producto saludable al consumidor. En un estudio hecho por Castro-González *et al.*, (2004) sobre el perfil de ácidos grasos de varias especies de pescados marinos mexicanos, se reportan las concentraciones de EPA y DHA para dos especies de pargo, el huachinango del Golfo (*Lutjanus campechanus*) y el huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*). Las concentraciones de EPA y DHA encontradas fueron de 4.71 y 18.59 mg/100 g de músculo para *L. campechanus*, y de 6.07 y 85.76 mg/100 g de músculo para *L. peru*. Dichos



valores se consideraron bastante bajos por estos autores como para aportar beneficios significativos a la salud.

En el presente estudio (Tabla 16), se encontraron concentraciones de EPA y DHA en músculo mucho más altas a las reportadas por Castro-González *et al.*, (2004) para los pargos *L. campechanus* y *L. peru*.

Al terminar la primera fase, solamente el grupo alimentado con la dieta 0% canola presentó una concentración de EPA y DHA (515.1 mg/100 g de filete) cercana a la recomendada de la American Heart Association (2010). Por el contrario, al terminar la segunda fase todos los grupos presentaron un contenido similar de EPA+DHA, además de que cumplieron con la ingesta diaria mínima recomendada. Los resultados obtenidos parecen indicar que la carne de pargo lunarejo criado bajo condiciones de cultivo puede poseer características nutricionales superiores a la de pargo silvestre, al menos en lo que a ácidos grasos se refiere.

**Tabla 16.** Concentración de EPA y DHA (mg/100 g de filete) en el filete de los pargos durante las dos fases de alimentación.

	Tratamiento	EPA	DHA	EPA+DHA
Primera fase	0% Canola	166.2	348.9	515.1
	25% Canola	84.5	205.4	289.9
	50% Canola	77.6	233.6	311.2
	100% Canola	58.4	183.1	241.5
Segunda fase	0% Canola	168.7	338.0	506.7
	25% Canola	177.5	381.8	559.3
	50% Canola	167.5	355.2	522.8
	100% Canola	180.0	365.9	545.9

El uso de una dieta de finalización en la engorda del pargo lunarejo parece ser una herramienta eficaz para manipular el perfil de ácidos grasos en la dirección deseada como ha sido demostrado en otras especies.

## VII. CONCLUSIONES

- El uso de aceite de canola como sustituto total del aceite de pescado en la dieta del pargo lunarejo *L. guttatus*, no produjo efectos negativos en el crecimiento ni utilización del alimento durante un periodo de alimentación de 104 días. No obstante, se encontró cierta tendencia que indica que la sustitución total del aceite de pescado por aceite de canola podría afectar el crecimiento y utilización del alimento a largo plazo.
- La inclusión de aceite de canola para sustituir el aceite de pescado en alimentos para pargo lunarejo *L. guttatus* ocasiona cambios en el perfil de ácidos grasos del músculo de los peces, incrementando la concentración de ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico, así como una reducción la cantidad de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico.
- El uso de una dieta de finalización con aceite de pescado logró la recuperación de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico en el músculo de pargos previamente alimentados con aceite de canola en un periodo de 92 días. Sin embargo, la concentración de ácido linoleico y linolénico se mantuvieron altas.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Probar la sustitución total del aceite de pescado por aceite de canola durante el ciclo completo de engorda del pargo lunarejo.
- Probar distintas fuentes de lípidos como aceite de linaza, maíz, soya, etc., individualmente o en combinación.
- Realizar estudios sobre el requerimiento de ácidos grasos del pargo lunarejo en sus diferentes etapas de vida, para tener un conocimiento sobre el metabolismo de ácidos grasos de esta especie y así poder optimizar el uso de diferentes fuentes de lípidos.

## IX. LITERATURA CITADA

- Allen, G. R. (1985). Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO Fish. Synopsis, 208 pp.
- Amezcuca, F., Soto-Avila, C. y Green-Ruiz, Yanira. (2006). Age, growth, and mortality of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* from the southeastern Gulf of California. Fisheries Research 77: 293–300.
- American Heart Association. (2010). “Frequently asked questions about fish”. Consultado en [http://www.heart.org/HEARTORG/General/Frequently-Asked-Questions-About-Fish UCM 306451 Article.jsp](http://www.heart.org/HEARTORG/General/Frequently-Asked-Questions-About-Fish_UCM_306451_Article.jsp) el 22/11/2010.
- AOAC (1984). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 14<sup>th</sup> Ed. The Association: Arlington, VA, 1141 pp.
- AOAC (1998). Método 969.33 Fatty Acids in Oils and Fats. Preparation of Methyl Esters. Boron Trifluoride.
- Arellano-Martínez, M., Rojas-Herrera, M., García-Dominguez, F., Ceballos-Vásquez, B. y Villarejo-Fuerte, M. (2001). Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en las costas de Guerrero, México. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 36: 1-8.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Farndale, B.M., Cox, D.I., McKinney, R.W. y Sargent, J.R. (1997). The effect of dietary lipid on polyunsaturated fatty acid metabolism in atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation. Lipids 32: 515–525.

- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P. y Sargent, J.R. (2001a). Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*. 132: 222–230.
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Campbell, P. J. y Sargent, J. R. (2001b). Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition*. 131: 1535–1543.
- Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J. y Sargent, J.R. (2003a). Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil “wash out”. *Aquaculture* 218: 515–528.
- Bell, J. G., Tocher, D. R., Henderson, R., Dick, J. R. y Crampton, V. O. (2003b). Altered fatty acid compositions in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *Journal of Nutrition*. 133: 2793–280.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R. y Sargent, J.R. (2004) Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: modification of flesh fatty acid compositions in atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids* 39: 223–232.
- Boza-Abarca, J., Calvo-Vargas, E., Solis – Ortiz, N. y Komen, J. (2008). Desove inducido y crecimiento larval del pargo manchado, *Lutjanus guttatus*, en la Estación de Biología Marina de Puntarenas, Costa Rica. *Ciencias Marinas* 34(2): 239 – 252.

- Breslow, J. L. (2006). n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 83:1477S–82S.
- Caballero, M. J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Grisvold, M. y Izquierdo, M. S. (2002). Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214: 253–271.
- Canola Council of Canada. Seed, Oil and Meal Prices. Consultado en <http://www.canolacouncil.org/canolaprices.aspx> el 02/09/2010.
- Castillo-Vargasmachuca, S., Ponce-Palafox, J.T., Chávez-Órtiz, E. y Arredondo-Figueroa, J.L. (2007). Effect of the initial stocking body weight on growth of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) in marine floating cages. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 42(3): 261 – 26.
- Castro-González, M.I., Ojeda, A., Silencio, J.L., Cassis, L., Ledesma, H. y Pérez-Gil, F. 2004. Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutracéuticos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol. 54 No. 3: 328-336.
- Drew, M. D., Ogunkuya, A. E., Janz, D. M. y Van Kessel, A. G. (2007). Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 267: 260–268.
- Dosanjh, B. S., Higgs, D. A., Plotnikoff, M. D., McBride, J. R., Markert, J. R. y Buckley, J. T. (1984). Efficacy of canola oil, pork lard and marine oil singly and in combination as supplemental dietary lipid sources for juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 36: 333-346.

- Dosanjh, B. S., Higgs, D. A., Plotnikoff, M. D., McBride, J. R., Markert, J. R. y Buckley, J. T. (1984). Preliminary evaluation of canola oil, pork lard and marine lipid singly and in combination as supplemental dietary lipid sources for juvenile fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 68: 325-343.
- Dosanjh, B. S., Higgs, D. A., McKenzie, D. J., Randall, D. J., Eales, J. G., Rowshandeli, N., Rowshandeli, M. y Deacon, G. (1998). Influence of dietary blends of menhaden oil and canola oil on growth, muscle lipid composition, and thyroidal status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in sea water. *Fish Physiology and Biochemistry* 19: 123–134.
- Ebling ME. (1968). The Dumas method for nitrogen in feeds. *Journal Association of Official Analytical Chemists* 51: 766- 770.
- Eskin, N.A. y McDonald, B.E. (1991). *Canola Oil*. Food Industry Series 2.
- FAO. (2009). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2008*. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO, Roma, 196 p.
- FAO. (2010). FAOSTAT. Consultado en <http://faostat.fao.org/site/636/DesktopDefault.aspx?PageID=636#anchor> el 24/08/2010.
- Folch, J., Lees, M. y Sloane, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275
- Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Hurtado, R., Grigorakis, K., Karacostas, I., Nengas, I., Rigos, G., Kotzamanis, Y., Venou, B. y Alexis, M. N. (2009). Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. *Recovery*



of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* 289: 317–326.

García-Ortega, A., Abdo, I., Duncan, N., Rodríguez, E., Velasco, G., González, B., Puello, A. y Marínez, I. (2005). Larval rearing of rose spotted snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions. In: Hendry, C.I., van Stappen, G., Wille, M. & Sorgeloos, P. (eds.) Larvi'05 – Fish and Shellfish Larviculture Symposium, Ghent, 89 September 2005. European Aquaculture Society Special Publication No. 36, Oostende, Belgium. 591 pp.

García-Ortega, A. (2009). Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry*. 35: 69-80.

Glencross, B. D., Hawkins, W. E. y Curnow, J. G. (2003a). Evaluation of canola oils as alternative lipid resources in diets for juvenile red seabream, *Pagrus auratus*. *Aquaculture Nutrition* 9: 305-315.

Glencross, B. D., Hawkins, W. E. y Curnow, J. G. (2003b). Restoration of the fatty acid composition of red seabream (*Pagrus auratus*) using a fish oil finishing diet after grow-out on plant oil based diets. *Aquaculture Nutrition* 3 9:409-418.

Glencross, B.D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1: 71–124.

Grant, A.M., Baker, D., Higgs, D.A., Brauner, C.J., Richards, J.G., Balfry, S.K. y Schulte, P.M. (2008). Effects of dietary canola oil level on growth, fatty acid composition and osmoregulatory ability of juvenile fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 277: 303–312.

- Grisdale-Helland, B., Ruyter, B., Rosenlund, G., Obach, A., Helland, S.J., Sandberg, M.G., Standal, H. y Røsjø, C. (2002). Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar*) raised at two temperatures. *Aquaculture* 207: 311 – 329.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. y Metailler, R. (2004). *Nutrición y alimentación de peces y crustáceos*. Grupo Mundiprensa. Madrid, España. 481 pp.
- Gunasekera, R.M., Leelarasamee, K. y De Silva, S.S. (2002). Lipid and fatty acid digestibility of three oil types in the Australian shortfin eel, *Anguilla australis*. *Aquaculture* 203: 335–347.
- Higgs, D.A., Balfry, S.K., Oakes, J.D., Rowshandeli, M., Skura, B.J. y Deacon, G. (2006). Efficacy of an equal blend of canola oil and poultry fat as an alternate dietary lipid source for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water. I: effects on growth performance, and whole body and fillet proximate and lipid composition. *Aquaculture Research* 37: 180-191.
- Huang, S.S.Y., Oo, A. N., Higgs, D. A., Brauner, C. J. y Satoh, S. (2007). Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 271: 420–431.
- Huang, S.S.Y., Fu, C H. L., Higgs, D. A., Balfry, S. K., Schulte, P. M. y Brauner, C. J. (2008). Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture* 274: 109–117.
- Ibarra-Castro, L. y Duncan, N. (2007). GnRHA-induced spawning of wild-caught spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture* 272: 737-746.

- Innis, S. M. (2007). Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *Journal of Nutrition* 137: 855–859.
- Izquierdo, M. S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L y Rosenlund, G. (2003). Dietary lipid sources for seabream and seabass: growth performance, tissue composition and flesh quality. *Aquaculture Nutrition* 9: 397-407.
- Izquierdo, M. S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Rosenlund, G. y Ginés, R. (2005). Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture* 250: 431– 444.
- Jobling, M. (1994). *Fish bioenergetics*. Chapman and Hall. 309pp.
- Jobling, M. (2004). 'Finishing' feeds for carnivorous fish and the fatty acid dilution model. *Aquaculture Research* 35: 706-709.
- Jobling, M., Leknes, O., Saethe, B.J. y Bendiksen, E.A. (2008). Lipid and fatty acid dynamics in Atlantic cod, *Gadus morhua*, tissues: Influence of dietary lipid concentrations and feed oil sources. *Aquaculture* 281: 87–94
- Jutfelt, F., Olsen, R.E., Björnsson, B.T. y Sundell, K. (2007). Parr–smolt transformation and dietary vegetable lipids affect intestinal nutrient uptake, barrier function and plasma cortisol levels in Atlantic salmon. *Aquaculture* 273: 298–311.
- Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S. y Appel, L. J. (2002). Fish consumption, fish Oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 23: 20-31.
- Lehninger, A., Nelson, D.L. y Cox, M. M. (2005). *Principles of Biochemistry* Fourth Edition. Freeman, W. H. & Company. 1119 pp.

- Lee, J. H., O'Keefe, J. H., Lavie, C. J., Marchioli, R. y Harris, W. S. (2008). Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clinic Proceedings* 83(3):324-332.
- Luzzana U, Scolari M, Campo Dall'Orto B, Caprino F, Turchini G, Orban E et al. (2003) Growth and product quality of European eel (*Anguilla anguilla*) as affected by dietary protein and lipid sources. *Journal of Applied Ichthyology* 19: 74–78.
- Marszalek, J. R. y Lodish, H. F. (2005). Docosahexaenoic acid, fatty acid–interacting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 21:633-657.
- Martínez-Llorens, S., Vidal, A.T., Moñino, A.V., Torres, M.P. y Cerd, J.V. (2007). Effects of dietary soybean oil concentration on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) *Aquaculture Research* 38:76-81
- Montero, D., Robaina, L., Caballero, M. J., Ginés, R. y Izquierdo, M. S. (2005). Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture* 248: 121– 134.
- Mourente, G., Dick, J. R., Bell, J. G. y Tocher, D. R. (2005). Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and h-oxidation of [1-14C] 18:3n<sub>3</sub> (LNA) and [1-14C] 20:5n<sub>3</sub> (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 248: 173– 186.
- Mourente, G. y Bell, J. G. (2006). Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: Effects on muscle and

liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 145: 389–399.

Neuringer, M., Anderson, G. J. y Connor, W. E. (1988). The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annual Reviews of Nutrition* 8:517-41

Ng, W.K. (2002). Potential of palm oil utilization in aquaculture feeds. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 11:473–476

Opsahl-Ferstad, H.G., Rudi, H., Ruyter, B., Refstie, S., (2003). Biotechnological approaches to modify rapeseed oil composition for applications in aquaculture. *Plant Science* 165: 349–357.

Osuna-Durán, B. (2009). “Requerimiento nutricional de vitamina C y efectos de su deficiencia en el desarrollo de juveniles de pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*), (Steindachner, 1869). (Tesis de Maestría – Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo).

Petterson, A., Johnsson, L., Brännäs, E. y Pickova, J. (2009). Effects of rapeseed oil replacement in fish feed on lipid composition and self-selection by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 15: 577-586.

Peng, S., Chen, L., Qin, J.G., Hou, J., Yu, N., Long, Z., Ye, J. y Sun, X. (2008). Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquaculture* 276: 154–161.

Pickova, J. y Morkore, T. (2007). Alternate oils in fish feeds. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 256–263.

- Piedecausa, M.A., Mazón, M.J., García-García, B. y Hernández M.D. (2007). Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture* 263: 211–219.
- Preciado-Iñiguez, K.Y. (2010). Sustitución de harina de pescado por concentrado de proteína de soya y complementación de DL-metionina en dietas para pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), y su efecto sobre el crecimiento y utilización del alimento. (Tesis de Maestría – Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo).
- Rainuzzo, J. R., Reitan, K. I. y Olsen, Yngvar. (1997). The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155: 103-115
- Raso, S. y Anderson, T. (2003). Effects of dietary fish oil replacement on growth and carcass proximate composition of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Research* 34: 813-819.
- Rodríguez-Moreno, F. (2009). Efecto de la inclusión de astaxantina en el alimento sobre la pigmentación de la piel de *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) bajo condiciones de cultivo. (Tesis de Maestría – Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo).
- Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G. y Kaushik, S. J. (2003). Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217: 465–482.
- Rojas, J. R., Maravilla, E. y Chicas, F. (2004). Hábitos alimentarios del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en Los Cóbano y Puerto La Libertad, El Salvador. *Revista de Biología Tropical* 52(1): 163-170.

- Rosenlund, G., Obach, A., Sandberg, M.G., Standal, H. y Tveit, K. (2001). Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research* 32: 323 – 328.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J. y Tocher, D.R. (1989). The lipids. En: Halver, J.E. Ed. *Fish Nutrition*. Academic Press. San Diego. pp. 153-218.
- Sargent, J.R., Bell, G., Bell, M. V., Henderson, R. J. y Tocher, D. R. (1995). Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology* 11: 183-198.
- Sargent, J.R. (1997). Fish oils and human diet. *British Journal of Nutrition* 78, Suppl. 1, S5-S13.
- Sargent, J.R., Bell, G., Bell, McEvoy, L., Tocher, D. R. y Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177: 191-199.
- Shapawi, R., Mustafa, S. y Ng, Wing-Keong. (2008). Effects of dietary fish oil replacement with vegetable oils on growth and tissue fatty acid composition of humpback grouper, *Cromileptes altivelis* (Valenciennes). *Aquaculture Research* 39: 315- 323.
- Shearer, K. D. (1994). Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119: 63 – 88.
- Simopoulos, A.P. (2002a). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56: 365–379.
- Simopoulos, A.P. (2002b). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition* 21(6): 495–505.

- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S. y Chen, R. (2006). Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 255: 210–222.
- Tacon, A. y Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146-158.
- Tocher, D. (2003). Metabolism and function of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in fisheries science* 11(2): 107-184.
- Turchini, G. M., Torstensen, B. E. y Ng, Wing-Keong. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1: 10–57.
- Turchini, G., Francis, D., Keast, R. y Sinclair A. (2011). Transforming salmonid aquaculture from a consumer to a producer of long chain omega-3 fatty acids. *Food Chemistry* 124: 609–614.
- Villa-Lopez, A. Y. (2005). Efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos en el alimento, sobre el crecimiento y sobrevivencia del pargo lunarejo *Lutjanus Guttatus* (Steindachner, 1869). (Tesis de Licenciatura – Universidad Autónoma de Sinaloa).
- Villa-López, A.Y. and García-Ortega, A. (2008). Evaluation of soy protein concentrate and canola oil as protein and lipid sources in grow-out diets for bullseye puffer *Sphoeroides annulatus*. Resúmenes del IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, Noviembre 24-27, 2008, Ensenada, Baja California, México.
- Villa-Lopez, A. Y. (2009). Evaluación del uso de concentrado de proteína de soya y aceite de canola en alimentos para la engorda del botete diana *Sphoeroides*



*annulatus* (Jenyns, 1842). (Tesis de Maestría – Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo).

Voet, D. y Voet, J. G. (2005). Biochemistry Third edition. Editorial John Wiley. 1304 pp.

Watanabe, T. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. Fisheries Science 68: 242–252.

## ANEXO I

### Análisis proximales

#### 1. Humedad

El método se basa en el secado de la muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo.

Material y equipo

- Horno de secado
- Charolas de papel aluminio
- Pinzas para crisol
- Desecador

Procedimiento

1. Pesar alrededor de 3 g de la muestra de alimento molida.
2. Colocar la muestra en un horno a 105°C por 12 hrs.
3. Enfriar la muestra en un desecador.
4. Pesar nuevamente la muestra.

Cálculos

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{B - C}{C - A} \times 100$$

Donde:

A= Peso de la charola (g)

B= Peso de la charola + muestra húmeda (g)

C =Peso de la charola + muestra seca (g)

#### 2. Ceniza

Se considera como el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra. Para determinar el contenido de ceniza en los alimentos o sus

ingredientes se emplea el método descrito por la AOAC (1984) en el cual las cenizas se obtienen por calcinación de las muestras y el cálculo se hace por diferencia de peso.

Materiales y equipo.

- Crisoles de porcelana.
- Mufla.
- Desecador.

Procedimiento

1. Pesar en un crisol de porcelana .5 g
2. Colocar el crisol en una mufla y calcinar a 550°C por 12 horas
3. Dejar enfriar en un desecador.
4. Pesar el nuevamente el crisol conteniendo la ceniza.

Cálculos

$$\text{Cenizas(\%)} = \frac{A - C}{B - C} \times 100$$

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso del crisol (g)

### 3. Proteína

El análisis se efectuó mediante el método de combustión de Dumas (Ebling, 1968), utilizando un equipo Leco FP-528 (Método No. 990.03, AOAC 1984).

Equipo

- Leco FP 528

Procedimiento

1. Pesar con precisión de 0.2 g de muestra y envolverla en papel estaño.

2. Colocarla en el horno de combustión

3. Presionar la tecla Start

La muestra, una vez depositada en el horno de combustión, pasa por un ciclo de análisis que incluye las fases de:

- Purga: Para purgar cualquier gas atmosférico que hubiera ingresado en el proceso de preparación de la misma.
- Combustión: En la que la muestra ingresa al horno calentado a 1000 °C aproximadamente y gas oxígeno puro es ingresado para acelerar el proceso de combustión. Los productos de la combustión son principalmente: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NO<sub>x</sub>, N<sub>2</sub>. Dichos gases son pasados a través de un filtro en el horno y por un enfriador termoeléctrico, para quitar la humedad. Luego son recolectados en el Ballast.
- Análisis: En esta fase los gases obtenidos en la combustión son homogeneizados en el Ballast a través de una mezcla pasiva. Una alícuota de muestra homogénea es capturada y el Ballast es forzado a evacuarse. La muestra gaseosa pasa a través de cobre para remover el O<sub>2</sub> y reducir los NO<sub>x</sub> a N<sub>2</sub>. La muestra continua su recorrido dentro del equipo pasando ahora por Lecosorb para remover el CO<sub>2</sub> y por Anhidrone para retener el H<sub>2</sub>O. Finalmente el N<sub>2</sub> arrastrado por una corriente de gas Helio hacia una celda de Conductividad Térmica (TC) en donde se mide la concentración de N<sub>2</sub> presente en la muestra. El resultado, expresado en % de proteína, es mostrado en la pantalla del equipo.

#### **4. Lípidos**

El análisis se efectuó de acuerdo al Método 920.39 (AOAC, 1984) utilizando un equipo de extracción Micro Soxhlet, mediante el cual las grasas de la muestra fueron extraídas con éter de petróleo y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente.

#### Reactivos, Materiales y Equipo

- Eter de petróleo, punto de ebullición 40–60°C. Aparato de extracción Soxhlet.
- Horno de laboratorio ajustado a 105°C.
- Desecador.
- Dedales de extracción.

#### Procedimiento

1. Sacar del horno los matraces de extracción y enfriar en un desecador.
2. Pesar .5 g de la muestra seca. Conectar al extractor el matraz con éter de petróleo a 2/3 del volumen total.
3. Llevar a ebullición y ajustar el calentamiento de tal manera que se obtengan alrededor de 10 reflujos por hora. Dejar aproximadamente 3 horas.
4. Evaporar el éter.
5. Enfriar los matraces en el desecador y pesarlos.

#### Cálculos

$$\text{Lípidos(\%)} = \frac{B - C}{A} \times 100$$

A = Peso del matraz (g)

B = Peso del matraz con grasa (g)

C = Peso de la muestra (g)

## **ANEXO II**

### **Técnicas de extracción y metilación de ácidos grasos**

#### **I.- Extracción de grasa (Método de Folch, 1957)**

1. Pesar 2 gramos de muestra.
2. Agregar 10 ml de metanol grado cromatográfico.
3. Homogenizar por 1 minutos en un homogenizador de tejidos.
4. Agregar 20 ml de cloroformo.
5. Homogenizar por 2 minutos.
6. Filtrar en un matraz kitazato al vacío.
7. Bajar los sólidos del papel filtro a un vaso precipitado de 100 ml y agregar 20 ml de cloroformo y 10 ml de metanol.
8. Homogenizar por 3 minutos.
9. Filtrar y lavar los sólidos con 20 ml de cloroformo y 10 ml de metanol.
10. Juntar los filtrados en un embudo de separación y agregar  $\frac{1}{4}$  de su volumen de KCL al 0.88% (hasta que se ponga lechoso).
11. Agitar y reposar, se toma la capa inferior y se agrega en otro embudo de separación y se le adiciona una mezcla de metanol:agua (5:5 v/v) (para enjuagar y separar mejor los lípidos).
12. Se recolecta la capa inferior en un matraz bola de 100 ml.
13. Se evapora el cloroformo y el metanol con gas de nitrógeno con flujo constante y en reflujo no mayor a 45°C.

## II.- Metilación

- 1.- Después de que se evapora todo el cloroformo, se toma la muestra del matraz bola.
2. Se agrega NaOH a 0.5N en metanol (la cantidad depende del contenido de grasa de la muestra) y se le adiciona 3 perlitas de vidrio.
3. El matraz se coloca en un refrigerante de rosario y se pone a reflujo por un tiempo de 5 a 10 minutos.
4. Se agrega trifloruro de boro (BF<sub>3</sub>) (la cantidad depende del contenido de grasa de la muestra) por la parte superior del refrigerante y se pone en reflujo de 3 a 5 minutos.
5. Se agrega 4 ml de heptano se pone a reflujo por 2 minutos.
6. Se retira el matraz bola del calor, y el contenido se pasa a un tubo de ensaye y se le agrega NaCl saturado y se agita hasta que se torna en un color blanco lechoso.
7. Posteriormente de que se pone lechoso, se le agrega una pizca de sulfato de sodio para separar los ácidos grasos.
8. Se toma la parte superior y se filtra por una pipeta pasteur empacada con fibra de vidrio y el filtrado se recupera en un vial de 2 ml.
9. Se guarda el vial en atmosfera de nitrógeno y posteriormente se almacena en un congelador.
10. Se inyecta 1 µl de la muestra en un cromatógrafo de gases.

## ANEXO III

### Determinación de contenido energético

Los análisis de calorimetría, se efectuaron en el Laboratorio de Ecofisiología y Cultivos de Apoyo, en la Facultad Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa, utilizando un microcalorímetro SEMIMICRO *PARR*. Este equipo, fue calibrado previamente a las determinaciones con muestras de contenido calórico conocido (ácido benzoico).

Las muestras de alimento fueron comprimidas en forma de pastillas utilizando una prensa y posteriormente se llevaron a peso constante a 60 °C. Una vez obtenido el peso constante, las pastillas se incineraron en presencia de oxígeno (45 atm) utilizando un alambre de ignición de características conocidas y electricidad, para encender las muestras.

El incremento de la temperatura, producido por la liberación de energía de la muestra al oxidarse, fue registrado automáticamente por un sensor sumergido en la cámara con agua del calorímetro. Este valor, se utilizó para determinar el calor de combustión de la muestra ( $H_c$ ) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$H_c = \frac{(W \cdot T) - e}{m}$$

donde  $W$ , corresponde a la energía equivalente de la bomba utilizada,  $T$  es el incremento de temperatura observado y  $e$ , corresponde al calor liberado por el alambre de cobre al quemarse.

Mientras tanto, el calor liberado por el alambre de cobre al quemarse, se calculó cuantificando la cantidad de este que fue consumido en la prueba, y considerando la liberación de 1400 calorías por gramo de alambre, esta



información fue proporcionada por el proveedor del equipo. Las unidades de contenido de energía para todas las muestras, se expresaron en  $\text{kCal g}^{-1}$ .