

Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón.¹

L. Elizabeth Cruz-Suárez, Denis Ricque-Marie, Mireya Tapia-Salazar y
Claudio Guajardo-Barbosa.

Programa Maricultura. FCB. Universidad Autónoma de Nuevo León. Cd. Universitaria Apdo. Postal
F-56, San Nicolás de los Garza, Nuevo León 66450, México. Tel/Fax: +52 8 3526380,
lucruz@ccr.dsi.uanl.mx y elicruz@hotmail.com

RESUMEN: La atractabilidad, la palatabilidad, la textura, y estabilidad en el agua de los alimentos para camarón son factores críticos para obtener tasas máximas de ingestión que permitan cubrir los niveles de nutrientes requeridos y lograr el máximo crecimiento, especialmente cuando los alimentos son suministrados con poca frecuencia. La harina de kelp deshidratado es un ingrediente bajo en calorías, con un alta concentración de minerales (Mg, Ca, P, K y I), vitaminas, proteínas, carbohidratos complejos poco digestibles, fibra y bajo contenido en lípidos. Los carbohidratos complejos o ficocoloides se encuentran en forma de gomas: alginatos, fucoidinas y manitol. Los alginatos puros han sido utilizados como aglutinantes en alimentos acuícolas especialmente de larvas de peces y crustáceos así como en diferentes industrias por sus propiedades gelificantes y texturizantes. El objetivo de la presente revisión fue evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) sobre algunas propiedades químicas y funcionales de alimentos experimentales y comerciales para camarón blanco *L. vannamei* así como el efecto sobre diferentes parámetros zootécnicos. Para ello se realizaron varios estudios: dos bioensayos donde se evaluó el efecto de la inclusión de harinas de kelp chilena (0, 4 y 8%) y mexicana (0, 2 y 4%) en alimentos experimentales con 35 y 30% de proteína respectivamente y un tercer bioensayo donde se evaluó el efecto de la inclusión de 3.2% de harina de kelp en alimentos comerciales con 25% de proteína y diferente proporción de proteína vegetal/animal. Cada tratamiento se evaluó con 4 replicados y 10 camarones por acuario, durante 28 días midiendo diferentes parámetros como: consumo de alimento, ganancia en peso, tasa instantánea de crecimiento, tasa de conversión alimenticia, eficiencia de utilización proteica, digestibilidad, excreción amoniacal, sobrevivencia, producción de biomasa y composición corporal. Por otro lado, se fabricaron por triplicado 9 alimentos comerciales peletizados con diferentes niveles de kelp (0, 3 y 5%) y de proteína (30, 35 y 40%) a los que se les determinó la estabilidad en el agua y capacidad de retención de agua como en los alimentos de los primeros bioensayos fabricados a escala laboratorio. Adicionalmente, se fabricaron otros 3 alimentos con 30% de proteína pero con diferente relación de proteína animal vegetal para determinar el efecto de relación proteína animal/vegetal sobre la magnitud del efecto del kelp desde el punto de vista funcional. La inclusión de los diferentes niveles de harina de kelp, especialmente los niveles entre 2 y 4%, tanto en los alimentos experimentales como comerciales aumentó el simple al doble el consumo del alimento, el crecimiento y la producción de biomasa especialmente cuando la proteína animal fue dominante. La digestibilidad de la materia seca de los alimentos también se vio mejorada con estos niveles. La estabilidad de los alimentos comerciales peletizados, cuando la harina de kelp fue utilizada como aglutinante, fue menor que con el aglutinante sintético, sin embargo fue muy buena, especialmente cuando la proteína animal fue dominante, con valores de pérdida de materia seca después de 1 hora de inmersión en agua marina de 3 a 4%. Adicionalmente, con la harina de kelp los pelets aumentaron significativamente su capacidad de absorber agua, adquiriendo una textura suave y elástica una vez que estos entran en contacto con el agua. Se concluye que la harina de kelp *Macrocystis pyrifera* incluida entre el 2 y 4% en alimentos peletizados para camarón, funciona como un excelente aditivo attractante, aglutinante y texturizante, que permite una utilización más eficiente de los nutrientes dietarios, al asegurar una menor lixiviación y una amplificada ingesta.

PALABRAS CLAVE: kelp, attractante, digestibilidad, aglutinante, texturizante, camarón

Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Guajardo-Barbosa, C., 2000. Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 19-22 Noviembre, 2000.

Mérida, Yucatán.¹

INTRODUCCION

El kelp es un nombre genérico utilizado para denominar a las algas cafés feofitas de los ordenes Fucales (e.i. *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum spp* y *Pelvetia spp.*) y Laminariales (e.i. *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera* y *Nereocystis luetkaena*) (Vásquez, 1999), aunque hay algunos autores que solamente consideran dentro de este termino, específicamente a las *Laminariales* (Vozzhinskaya y Kuzin, 1994; Kloareg, *et al.* 1999). Estas algas generalmente se localizan en zonas de sustratos rocosos cercanas a las costas a profundidades no mayores de 40 metros, en aguas templadas o frías, claras y ricas en nutrientes. Las principales áreas en donde se localiza *Macrocystis pyrifera* es en las costas de América del norte y del sur, sur de Africa, Australia, Nueva Zelanda, Noruega, Escocia, Japón y Corea (Tabla 1).

Tabla 1. Principales especies de algas cafés, distribución y uso.

Especie	Distribución	Principal uso
<i>Macrocystis</i>	Costa oeste de Norteamérica, de la península de Monterrey en California Central a la mitad de la Baja California costa oeste. Costa de Tasmania y de Australia Perú, Chile, Argentina	En California: Industria del alginato (Kelco), poca producción en forma de harina o alga deshidratada para consumo animal o humano farmacéutico (Productos del Pacifico). Forraje y aditivo alimenticio. Fuente de potasa para fertilizante y explosivos (Primera Guerra mundial).
<i>Laminaria</i>	Escocia, Irlanda, Noruega, Francia, China, Japón, Corea	En Asia: consumo humano Japón solo desechos para alginato China produce por cultivo y usa para consumo humano y para alginato
<i>Laminaria hyperborea</i>	Francia, Irlanda, Escocia, Noruega	Noruega produce alginatos (Protan)
<i>Laminaria digitata</i>	Francia, Noruega y Escocia	Alginatos
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Escocia e Irlanda, Noruega y Sur de Nueva Escocia, Canadá	Producción de alginato por Protan Acadian Sea plants en Canadá, producción de alginatos y de harina de kelp como forraje o aditivo alimenticio niveles de 5% en aves, bovinos, caprinos, cerdos y equinos. Consumo fresco por ganado. Extractos como fertilizantes
<i>Durvillaea antarctica</i>	Chile	Exportada para alginatos a Inglaterra y Estados Unidos
<i>Durvillaea potatorum</i>	Australia	Exportada para alginatos en Inglaterra y Estados Unidos
<i>Lessonia</i>	Chile	Exportada a Japón, Estados Unidos y Canadá Para alginatos
<i>Ecklonia cava</i>	Japón y Corea, Sudáfrica	Alginato, Sudáfrica exporta
<i>Undaria</i>	Corea	Consumo humano, desechos para alginato
<i>Sargassum</i>	India, Filipinas	Exporta y localmente alimento animal y fertilizante
<i>Turbinaria</i>	India	

Fuente: Hugh, 1987.

***Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh** pertenece al orden de las laminarias, es una alga de gran tamaño la cual llega a alcanzar 50 metros de longitud o más; esta conformada por un conjunto de estipes que se fijan al sustrato preferentemente rocoso, por medio de un rizoides. De los estipes surgen los canuloides

(ramas coriáceas), que cuentan con estructuras flotadoras llamadas neumatocistos, de aquí se despliegan las láminas. En conjunto estas estructuras forman una fronda. El hábitat de esta especie es la parte somera de la zona de mareas, y las mayores profundidades a las que se les ha encontrado corresponden a los 40.3 m., áreas de fondo rocosos, formando mantos densos sobre grandes extensiones (Guzmán del Proo *et al.* 1986). Se distribuye principalmente en el hemisferio Sur, excepto Antártica, (Sudamérica, Suda frica, Australia y Nueva Zelanda) y en las costas orientales del Pacífico Norte. Fue introducida en aguas Asiáticas en 1978 por científicos Chinos (Liu *et al.* 1984), también se ha cultivado en Atlántico Norte en 3 ocasiones (North, 1987). En América se distribuye en Perú, Patagonia y Tierra del fuego al Sur y desde Santa Barbara, California a Punta San Hipólito B. C., México. Su distribución se ve afectada por la temperatura del agua, el sustrato, la exposición al oleaje e intensidad de luz en el fondo. Cuenta con una tasa de crecimiento de hasta 14.7cm/día en la primavera y 23.3 cm/día en el invierno (Hernández Carmona, 1996). Su ciclo de vida consiste en una alternancia de generaciones entre un esporofito asexual y un gametofito microscópico sexual. Cuentan con un periodo de vida en promedio de 6 meses. Su biomasa se ha reportado de 3 a 22 kg/m².

El uso de esta alga kelp a escala industrial ha requerido, para propósitos prácticos, de un análisis detallado de sus constituyentes químicos. Desde el punto de vista nutricional, las algas *Macrocystis* son productos bajos en calorías, con un alta concentración de minerales (Mg, Ca, P, K y I), vitaminas, proteínas, carbohidratos poco digestibles, fibra y bajo contenido en lípidos (Jiménez-Escrig y Goñi-Cambrodon, 1999). La calidad de la proteína y de los lípidos es aceptable en comparación con otras fuentes vegetales principalmente debido al alto contenido de aminoácidos esenciales y altos valores relativos de ácidos grasos insaturados. El perfil de aminoácidos destaca por contener elementos esenciales para diversas especies, como alanina, leucina y lisina y no esenciales como ácido glutámico, ácido aspártico, considerándose como una fuente de proteína complementaria, interesante por este aspecto. Los carbohidratos se encuentran en esta alga en forma de carbohidratos complejos o ficocoloides (40%), estos se presentan en forma de gomas: alginatos (18-26%), fucoidinas (polisacáridos sulfatados, glucuronoxiloglucan sulfatado) (0.5-2%), manitol (6-22%). Estos tienen la capacidad de retener agua (con sus minerales) en el alga para evitar la deshidratación (Rodríguez y Hernández, 1991). Por su alto contenido de cenizas, la harina de algas es una fuente potencial de minerales como cloro, potasio, magnesio, iodo y otros minerales traza. Su fibra, constituida principalmente de polisacáridos solubles, difiere química y físico-químicamente de la fibra de plantas terrestres y por lo tanto induce diferentes efectos fisiológicos.

En general la composición química de las algas varía considerablemente de especie a especie y en función de su localización geográfica, estaciones del año, exposición al oleaje y a las corrientes, concentración de nutrientes presentes en el medio, profundidad a la que se localizan, la temperatura, estado de desarrollo de las algas, etc. (Tabla 2).

Tabla 2.- Composición química de *Macrocystis* y de *Ascophyllum* (% , base seca)

	<i>Macrocystis Pyrifera 1</i>	<i>Macrocystis pyrifera 2</i>	<i>Macrocystis pyrifera 3</i>	<i>Ascophyllum nodosum 4</i>	<i>Ascophyllum nodosum 5</i>
Composición bromatológica (%)					
Humedad	5.46-8.07				
Proteína cruda*	5.13-12.72	9.41	5-14	5-10	5-10
Grasa	0.52-1.14	0.85	0.5-2	2-4	2-7
Cenizas	31.03-41.43	31	38.96±6.24	17-20	15-25
Fibra cruda	4.45-8.86	7.15		8	
Carbohidratos	46.27-50.60	39.59		45-60	
Energía bruta (kcal/g)	2.03-2.20				
Dig. <i>in vitro</i> materia seca (%) para rumiantes **	81.24-90.08				
Dig. <i>in vitro</i> materia orgánica	77.66				
Dig. <i>in situ</i> materia seca (%)	83.24				
Polisacáridos complejos					
Alginato de sodio (%)	18.9-26.5		15.7±2.56	20-26	15-30
Viscosidad (cps)	132-99				
PH en sol. al 1.25%	9.55-10.82				
Manitol	2.06-15.03		6-22	5-8	5-10
Laminarin			1-2	2-5	0-10
Fucoidan			0.5-2	10	4-10
Celulosicos			3-8		
Compuestos antinutricionales					
Xantofilas (mg/kg)	41.2				
Saponinas	Ndetectado				
Acido tánico (mg/g)	0.55-34.3				2-10%
Glucósidos	Nd				
cianogénicos					
Alcaloides	Presencia moderada				
Hemaaglutininas	Nd.				

Tabla 2.- Continuación

	<i>Macrocystis Pyrifera 1</i>	<i>Macrocystis pyrifera 2</i>	<i>Macrocystis pyrifera 3</i>	<i>Ascophyllum nodosum 4</i>	<i>Ascophyllum nodosum 5</i>
Minerales	%	%		%	%
Yodo	0.153	0.153		0.07-0.12	0.01-0.1
Calcio	1.246	1-3		1-3	
Fósforo	0.258	0.1-0.2		0.1-0.15	
Sodio	3.114	3-4		3-4	3-4
Potasio	5.560	5.56		2-3	2-3
Magnesio	1.90	0.5-1		0.5-0.9	0.5-0.9
Cloro	8.573	1-3		3.1-4.4	
Zinc	5ppm			50-20ppm	
Hierro	360ppm	150- 1000ppm		150- 1000ppm	
Cobre	6ppm	4-15ppm			
Manganeso	Nd.	10-50ppm		10-50	
Plomo	Nd.				
Aluminio		20-100ppm			
Barium		15-50ppm			
Berilio		<1ppm			
Boro		80-100ppm			
Cadmio		<1ppm			
Cromo		<1ppm			
Cobalto		1-10ppm			
Mercurio		<0.001ppm			
Niquel		1-5ppm			
Nitrogeno		0.6-2%			
Selenio		3-4ppm			
Sulfatos		2-3%			
Titanio		3-6ppm			
Vanadio		2-5ppm			
Vitaminas					
Ácido ascórbico		100- 2000ppm		500- 2000ppm	
Caroteno		30-60ppm		30-60ppm	
Biotina		0.1-0.4ppm		0.1-0.4ppm	
Acido folico		0.1-0.5ppm		0.1-0.5ppm	
Niacina		10-30ppm		10-30ppm	
Riboflavina		5-10ppm		5-10ppm	
Tocoferoles		-		150-300ppm	
Vit B12		<0.004ppm		0.004ppm	
Vit K		<10ppm		10ppm	
Tiamina		1-5ppm		-	

Fuente:1) Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991; Castro-González *et al.*, 1994; Castro González *et al.*, 1991.
 * nitrógeno no proteico importante proveniente de nitratos, nitrógeno amoniacal, y de carbohidratos complejos. **Método Minson y McLeod en Tejada (1983), mayor mientras menor el contenido de alginato y fibra bruta 2) Productos del Pacífico ficha técnica, 3) North, 1987 4) Sharp, 1987 5) Seaweed site © Guiry, M.D., 2000.

Anualmente mas de 4 millones de toneladas de kelp son cosechadas, principalmente de su cultivo comercial en China, Japón y Corea o de poblaciones naturales presentes en Europa, Norte y Sud América (Kloareg *et al.* 1999). Comercialmente, las algas cafés son utilizadas en Asia principalmente para consumo humano, y en Europa y América para la producción de harina de algas y especialmente

para la producción de ficocoloides, principalmente alginato, el cual genera anualmente US\$250,000,000 (Vásquez, 1999). El kelp también ha sido utilizado por cientos de años como fertilizante y como complemento nutricional en alimentos para ganado (Guzmán del Proo *et al.* 1986).

El principal uso de las algas cafés y en particular de *Macrocystis pyrifera*, parte del uso del mucílago localizado en la pared celular y en los espacios intercelulares, el cual al ser tratado con carbonato de sodio y posteriormente con ácido mineral, produce el ácido alginico; este es un compuesto poliurónico muy estable a la hidrólisis, que por si mismo es insoluble en el agua, pero tiene capacidad de absorberla y sus sales, excepto la del Ca, son solubles en agua, son copolímeros de ácido beta-D-manosilurónico o D-manurónico (M) y ácido alfa-L-gulosilurónico o L-gulurónico (G), unidos por enlaces 1-4 (Fig. 1; Rehm y Valla, 1997); de la proporción de estos se deriva la relación M:G que determina el grado de viscosidad del alginato. El mayor contenido de ácido alginico entre la feofitas lo presenta *Macrocystis pyrifera* (Villarreal-Rivera, 1994); el peso molecular de los alginatos de *M. pyrifera* es de 146,000-264,000 y una relación M:G de 0.9-1.0 (Fujiki *et al.* 1994).

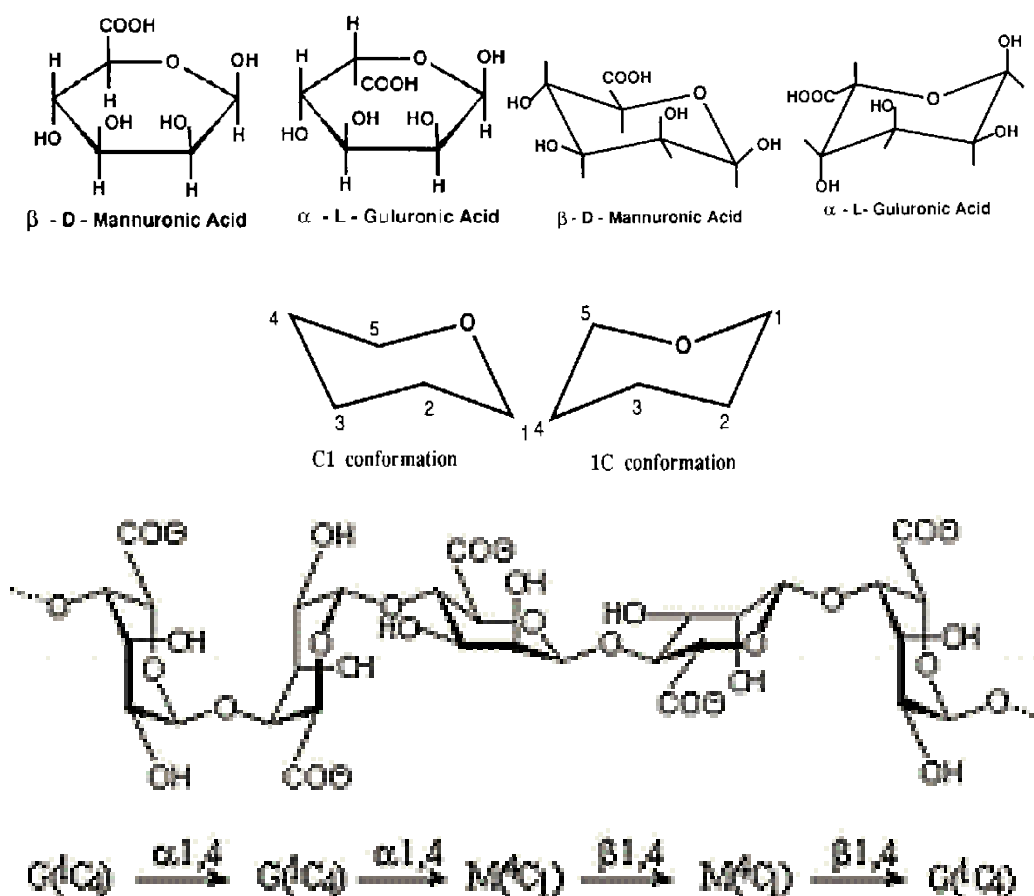


Figura 1.- Formulas químicas de las unidades monoméricas del ácido alginico, y de una cadena de unidades (Hugh, 1987).

Estos alginatos se emplean en procesos en los que se requiere un agente espesante, gelificante, emulsificante, formador de películas o que de cuerpo a ciertas sustancias (Guzmán del Proo *et al.* 1981). Los alginatos son ampliamente utilizados en la industria de textiles (42%), alimentos (34%),

papel (9.4%), farmacéutica y productos dentales (5.3%), y otras actividades productivas (3.2%) (Vásquez, 1999).

Aplicaciones en alimentación animal terrestre.

El uso de algas deshidratadas como complemento alimenticio ha dado buenos resultados en bovinos y aves. Por ejemplo, *Ascophyllum nodosum* mejora en bovinos la eficiencia de utilización del alimento y la ganancia en peso; incrementa la producción de leche, minimiza la pérdida de producción durante los periodos de estrés, prolonga los periodos de lactación, aumenta el contenido de hemoglobina en sangre y produce una reducción en el contenido de grasa en la carne. Estos mismos efectos positivos han sido observados en aves. Por otro lado, la incorporación de este ingrediente ha logrado mejorar la calidad nutricional de ciertos productos, así por ejemplo, la inclusión de algas en alimentos para ganado lechero aumenta el contenido de los niveles de yodo y vitamina A en la leche. En aves, aumenta los niveles de pigmentación de la yema del huevo (Strand *et al.* 1998) y los niveles de ácidos grasos insaturados, especialmente el docohexaenoico (Herber y Van-Elswyk, 1996). Por otro lado la digestibilidad de la materia seca en rumiantes se considera buena (83.2% en promedio) (Castro-González *et al.* 1991).

En el hombre y en mamíferos, las algas cafés no solamente han sido reconocidas como una excelente fuente de nutrientes, si no que además se ha demostrado que algunos de sus componentes, especialmente sus pigmentos y sus polisacáridos, poseen propiedades fisiológicas importantes (Tabla 3).

Tabla 3. Propiedades fisiológicas de polisacáridos de algas o extractos reportados en humanos y otros organismos.

Actividad	Sustancia activa	Referencia
Anticoagulante antitrombótica	Polisacáridos sulfatados, fucoidan de <i>Ascophyllum</i> y otras algas cafés	Chevolot <i>et al.</i> 1999, Millet <i>et al.</i> 1999
Anticoagulante	Derivados de dextranos y fracciones de fucoidan de algas cafés	Mauray <i>et al.</i> 1998
Antioxidante, anticoagulante, antitumoral, antimutagénica	Fibra dietaria algas comestibles asiáticas	Jiménez -Escrig y Goni-Cambrodon, 1999
Antitumoral y antiproliferativa en casos de cáncer	Fucanos, polisacáridos sulfatados de <i>Ascophyllum</i>	Teas, 1981; Furusawa y Furusawa, 1985; Yamamoto <i>et al.</i> 1986 y Riou, <i>et al.</i> 1996
Antioxidante	Pigmento fucoxantina de algas marinas cafés asiáticas: <i>Undaria</i> , <i>Sargassum</i> , <i>Hijikia</i>	Nomura <i>et al.</i> 1997; Yan <i>et al.</i> 1999
Antioxidante	Función compartida con otros polisacáridos solubles en agua como diversas sales de alginato sulfatado y manuronato	Xue <i>et al.</i> , 1998
Disminución de la absorción intestinal de glucosa e insulina en cerdos	Polisacáridos extraídos o alginatos de algas <i>Eucheima cottonii</i> , <i>Laminaria digitata</i> , <i>Palmaria palmata</i>	Vaugelade <i>et al.</i> , 2000
Actividades inmunomodulatorias asociadas a los niveles de células B en ratones	Polisacáridos extraídos con agua caliente, de algas cafés en Japón: <i>Hijikia</i> y <i>Laminaria japónica</i>	Okai <i>et al.</i> 1998 y Okai <i>et al.</i> , 1996
Actividad estimulante del sistema inmune		Liu, 1997; Shan <i>et al.</i> 1999
Estimulación del metabolismo de los lípidos en ratas	Alginatos de bajo peso molecular	Lee <i>et al.</i> 1998
Actividad quelante o secuestrante de metales divalentes como plomo. Reducción en absorción de plomo por el sistema gastrointestinal en ratas	Fucoidan de <i>Ascophyllum</i>	Sharp, 1987
Actividad anticolesterol	Fucosteroles de <i>Ascophyllum</i>	Sharp, 1987
Fuente natural para este importante mediador neurohormonal	Compuestos indol en <i>Macrocystis</i> como la triptamina (Serotonina),	Accorinti, 1992

Por su parte, en **nutrición de organismos acuáticos**, *Macrocystis pyrifera* y *Ulva sp.* se han utilizado frescas y en alimentos extrudidos para el **erizo de mar** *Loxechinus albus* en Chile obteniendo buenos resultados en la formación de gónadas especialmente con el alimento extruido conteniendo kelp (Lawrence *et al.* 1997); en alimentos para el **abulón**, *Haliotis spp.* (Stuart y Brown, 1994; Marsden y Williams, 1996; González-Aviles y Shepherd, 1996; Viana *et al.* 1996; Fleming 1998) y como atractante en la misma especie aunque en forma fresca (Viana *et al.* 1994). En Japón las algas también se han evaluado como aditivos en alimentos para **peces**, encontrándose que aceleran la asimilación de ácido ascórbico y mejoran las condiciones fisiológicas relacionadas a la nutrición de la vitamina C (Nakagawa, 1997). Consecuentemente, el metabolismo de lípidos, especialmente la lipólisis, es

mejorado y el efecto dietario del alga sobre la mejoría del metabolismo de lípidos puede ser parcialmente explicado por el efecto sinérgico con la Vitamina C.

Por otro lado, se ha probado un efecto inmunoestimulante en **alginatos de sodio** de *Undaria pinnatifida* y *Macrocystis pyrifera* en contra de infecciones bacterianas (*Edwardsiella tarda*) en *Cyprinus carpio* L. (**carpa común**). Esta actividad se cree que esta ligada a la relación M:G (Fujiki *et al.*, 1994) entre otros, ya que los alginatos del alga *Lessonia nigrescens* presentaron un efecto muy reducido. El **laminarín sulfatado** por su parte se ha encontrado que tiene propiedades inmunomodulatorias en los macrófagos *in vitro* del **Salmón** *Salmo salar* (Dalmo y Seljelid, 1995). Recientemente, en **camarones** *Penaeus japonicus*, Takahashi *et al.*, (1998) demuestran la eficacia de la administración oral de fucoidan, polisacárido sulfatado extraído del alga café *Cladosiphon okamuranos*, a concentraciones de 60 y 100 mg de fucoidan semipuro/ kg de camarón /día en el control del síndrome de mancha blanca (WWS), a través de un desafío por inmersión con el virus WSSV, en donde se presentaron sobrevivencias de 77 y 76% con respecto al 0% obtenido en el control. Concluyendo que el fucoidan inhibe la adsorción del virus WSSV a las células del camarón, previniendo la infección, mecanismo previamente demostrado en virus de herpes simples, de inmunodeficiencia por Baba *et al.* en 1988. Actualmente se comercializa fucoidan líquido extraído de algas cafés como aditivo inmunoestimulador para camarones marinos por varias compañías en el mundo.

Aplicaciones en la tecnología de alimentos para acuicultura.

Los alginatos se han empleado como aglutinante junto con el carragenano (otro polisacárido de origen marino) en alimentos microparticulados para la nutrición en larvicultura marina (Pedroza *et al.* 2000), en alimentos experimentales y semicomerciales para engorda de camarones marinos y de agua dulce y de diferentes especies de peces (IFREMER, Tahití; Programa Maricultura, UANL; Houser y Akiyama, 1997). Sin embargo su utilización en alimentos producidos a escala comercial en grandes volúmenes no es posible por el precio. Adicionalmente, en algunos estudios en peces se ha demostrado que su inclusión en niveles elevados disminuye la digestibilidad del alimento (Riaza, 1987).

En México, desde los inicios de los noventa, se ha utilizado la harina de kelp de *Macrocystis pyrifera* en alimentos experimentales y comerciales para abulón, y más recientemente desde mediados de 1998 en algunos alimentos comerciales para engorda de camarón como “agente aglutinante” y como “aditivo inmunoestimulante”. Esto, en algunos casos a solicitud de los productores de camarón, pero en todos los casos basándose en recomendaciones técnicas aparentemente extrapoladas de las buenas experiencias reportadas en otras especies. Los resultados obtenidos en este año con el uso de estos alimentos en granjas intensivas han sido excelentes en términos de velocidad de crecimiento, tasa de conversión, y sobrevivencia en *L. vannamei* (comunicación personal, Ing. Enrique Díaz).

En el presente trabajo se presentarán los resultados obtenidos en el Programa Maricultura de la UANL, de 4 bioensayos realizados en camarón blanco, donde se evaluó el efecto de la inclusión de harina de kelp *Macrocystis pyrifera* de Chile o de México como atractante, aglutinante y texturizante gelificante en alimentos experimentales y comerciales para camarón, así como en parámetros zootécnicos (consumo de alimento, ganancia en peso, tasa instantánea de crecimiento, tasa de conversión alimenticia, eficiencia de utilización proteica, digestibilidad del alimento, excreción amoniacal, sobrevivencia y biomasa final en juveniles de camarón blanco *L. vannamei*). Así mismo, el efecto de relación proteína animal/vegetal sobre la magnitud del efecto de la inclusión de harina de kelp y el nivel óptimo de proteína en el alimento.

MATERIAL Y METODOS

Harinas de kelp

Se utilizaron dos harinas de kelp *Macrocystis pyrifera* de diferente origen, una fue proporcionada por la compañía INUAL-TEPUAL en Chile, la cual fue cosechada frente a las costas de Punta Arenas, en el Sur de Chile, con un lanchón y la otra de México proporcionada por Productos del Pacífico, cosechada frente a las costas de Baja California Norte por el Barco “El Sargacero”. En ambos casos su proceso poscosecha consistió en una deshidratación por exposición al aire y al sol durante varios días seguido de un proceso de molienda. La composición química de ambas harinas se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4.- Composición química y perfil de aminoácidos de las harinas de kelp *Macrocystis pyrifera* evaluadas.

Composición química (% base húmeda)	Kelp chileno		Kelp mexicano ³	
Humedad	11 ¹	8.60 ²	12 ³	10.25 ²
Proteína	11.6	12.23	9.41	12.25
Lípidos	1.1	0.82	0.85	0.56
Ceniza	36.6	39.01	31	39.82
Fibra	10	4.35	7.15	-
ELN	29.7	34.99	39.69	39.82
Alginatos	30		25	
Energía metabolizable en pollos kcal/kg.	431			
Aminoácidos (g/100 g de proteína)				
Arginina	3.55		3.82	
Alanina	6.89		5.3	
Cisteína	-		3.15	
Fenilalanina	4.16		3.78	
Isoleucina	3.25		3.2	
Lisina	5.25		5.05	
Leucina	5.59		5.76	
Metionina	1.65		2.05	
Tirosina	2.10		2.68	
Treonina	3.66		4.78	
Valina	4.39		4.45	
Histidina	2.05		1.3	
Glicina	5.32		4.83	
Serina	4.10		4.94	
Triptofano	-		-	
Acido aspártico	8.30			
Acido glutámico	9.75			
Glicina	5.32			
Taurina	0.86			

¹Análisis bromatológico proporcionado por Inual-Tepual

²Análisis bromatológico realizado por el PROGRAMA MARICULTURA

³Análisis bromatológico proporcionado por la compañía Productos el Pacífico.

Estudios I y II. Efecto de la inclusión de 2 niveles de kelp sobre a) propiedades químicas y funcionales del alimento y b) algunos parámetros zootécnicos (crecimiento, consumo de alimento y la digestibilidad del alimento) en camarón blanco con alimentos experimentales.

Alimentos experimentales

El estudio I se realizó con la harina de kelp chilena en mayo 1998. El protocolo experimental y la fórmula control se diseñaron en colaboración con Claudia López y Juan Pablo Hinrichsen, de la compañía Inual-Tepual, misma que proporcionó la harina de kelp y solicitó el estudio. Como el objetivo del proyecto era evaluar el efecto attractante de la harina de kelp en alimentos para camarón, se decidió trabajar con una fórmula control poco attractante, es decir sin incluir otros attractantes adicionales a los presentes en la harina y el aceite de pescado. Además se decidió incluir una proporción elevada de proteína vegetal: pasta de soya y gluten de trigo (aglutinante) tomando en cuenta que estos ingredientes tienen poco poder attractante. Basándose en esto se formularon 3 alimentos (dietas 1 a 3) con 35% de proteína con una relación proteína animal/vegetal 43/57, 8% de lípidos y con una inclusión 0, 4 y 8% de harina de kelp (Tabla 5). Por su nivel de proteína la harina de kelp se

incluyo en sustitución de harina de trigo. Cabe señalar que en este experimento no se contemplo, ni se compenso en la formula, algún efecto aglutinante de la harina de kelp. Los valores de inclusión (4 y 8%) se fijaron considerando valores intermedios a los recomendados por la compañía Acadian Seaplant (2-10%) en alimentos para camarones, en su ficha técnica de harina de kelp de *Ascophyllum nodosum*.

Tabla 5.- Formulas experimentales para evaluar la harina de kelp chilena

Dietas	1	2	3
Ingredientes (%)			
Kelp (11.6)	0.00	4.00	8.00
Harina de pescado (68.3)	21.76	21.87	21.98
Pasta de soya (48)	16.95	16.95	16.95
Gluten de trigo (78)	8.00	8.00	8.00
Harina de trigo (12)	44.71	40.32	35.93
Aceite de pescado	3.33	3.32	3.31
Lecitina de soya	2.50	2.50	2.50
Monofosfato de sodio	1.86	2.15	2.44
Colesterol solvay	0.17	0.17	0.17
Mezcla mineral	0.25	0.25	0.25
Mezcla vitamínica	0.25	0.25	0.25
Vitamina C	0.02	0.02	0.02
Antioxidante	0.02	0.02	0.02
Metionina	0.18	0.18	0.18
Composición química analizada (% base húmeda)			
Humedad	6.58	6.49	7.02
Proteína	34.82	34.60	34.22
Lípidos	7.93	8.09	8.04
Ceniza	6.59	7.76	9.73
Fibra	0.99	1.02	1.36
ELN	43.09	42.05	39.63
Energía bruta (kcal/g)	4.5	4.4	4.3
Perdida de materia seca (1hr en agua marina a 35g/l) ¹	7.75±1.16a	7.05±0.81a	12.32±4.652b

¹ Probabilidad de ANOVA P = 0.0106. Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

El estudio II se realizo con la harina de kelp mexicana, a solicitud de la compañía mexicana Productos del Pacifico en junio de 2000. En este caso los objetivos solicitados fueron demostrar las capacidades: aglutinante, attractante, y promotora de una mejor utilización de los nutrientes (efecto sobre la digestibilidad *in vivo*) de la harina de kelp al ser incluida en alimentos experimentales para camarón. Al igual que en el estudio anterior, no se incluyo ningún attractante extra al de la harina y el aceite de pescado en el alimento control, pero a diferencia de éste, el alimento control se diseño con un nivel de proteína menor (30%), una proporción dominante de harina de pescado (relación proteína animal/vegetal 60/40), 10% de lípidos y se utilizo como aglutinante una mezcla de 3% de alginato de sodio y 1% de hexametafosfato (en lugar de gluten de trigo). Finalmente, los niveles de inclusión (2 y 4%) de la harina de kelp fueron más bajos y fueron definidos basándose en el nivel de inclusión utilizado a escala comercial, al usado como aglutinante e inmunoestimulante. En resumen, se formularon 3 alimentos (4 a 6) con 30% de proteína, con una inclusión de harina de kelp de 0, 2 y 4% en sustitución del alginato de sodio (3%), hexametafosfato de sodio (1%) y pasta de soya (Tabla 6). Adicionalmente, para determinar el efecto de la inclusión de la harina de kelp sobre la digestibilidad de

proteína y de la materia seca en los alimentos experimentales (dietas 4 a 6) se agrego 1 % de oxido de cromo a 300g de cada alimento.

Tabla 6.- Formulas experimentales con harina de kelp mexicana

Dietas	4	5	6
Ingredientes			
Kelp (12.3 ¹)	0	2	4
Harina de pescado Tepual (67.6)	26.655	26.65	26.65
Pasta de soya (46.3)	12.985	11.546	11.556
Harina de trigo (12.3)	49.124	52.622	50.596
Aceite de pescado Tepual	1.142	1.092	1.109
Lecitina de soya	5.137	5.139	5.139
Colesterol Solvay	0.213	0.213	0.213
Mezcla mineral	0.25	0.25	0.25
Mezcla vitamínica	0.25	0.25	0.25
Vitamina C	0.05	0.05	0.05
Antioxidante	0.05	0.05	0.05
Antifungico	0.05	0.05	0.05
Metionina	0.092	0.088	0.086
Alginato de sodio	3.001	-	-
Hexametáfosfato de sodio	1	-	-
Composición química analizada (% base húmeda)			
Humedad	7.71	6.79	7.31
Proteína	30.08	29.90	30.48
Lípidos	9.17	9.41	9.56
Cenizas	6.44	5.94	6.70
Fibra	1.45	1.09	1.29
E.L.N.	45.16	46.86	44.65
Energía bruta (kcal/g)	4.41	4.49	4.45
Pérdida de materia seca (%)			
1 hora ²	8.25±.20a	11.21±.97b	12.64±.67c
2 horas ³	11.87±.24a	15.31±.42b	16.74±.98c
% de proteína en los alimentos después de su inmersión en agua marina			
1 hora ⁴	30.15±.41	30.96±.34	30.46±.62
2 horas ⁵	30.04±0.17a	31.20±0.58b	31.60±0.71b
% Pérdida de proteína en los alimentos después de sumergirlos en agua marina			
1 hora ⁶	15.11±1.15a	14.30±0.93a	19.05±1.64b
Absorción de agua %	180	130	150

¹ Valores entre paréntesis expresan el contenido de proteína en porciento.

²P = 0.0001; ³P = 0.0002; ⁴P = 0.1845; ⁵P = 0.0288 ; ⁶P =0.0082.

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Para la elaboración de los alimentos, todos los ingredientes fueron molidos a un tamaño de partícula inferior a 250 micras (100% pasa tamiz 60), pesados y mezclados en una batidora kitchen Aid de una

capacidad de 4 L. Los ingredientes mayores fueron mezclados durante 5 minutos. Lo mismo se hizo para el caso de los microingredientes. Posteriormente, 200 gramos de macroingredientes fueron reincorporados a los microingredientes y mezclados durante 5 min; el resto de los macroingredientes fue incorporado a la mezcla de alimento y mezclado durante 5 minutos más. Una vez obtenida la mezcla de todos los ingredientes, se tomaron 300 gramos de alimento para elaborar las dietas con óxido de cromo al 1% (dietas 5 a 6). La lecitina de soya y el aceite de pescado fueron mezclados y colocados en un baño María durante 3 minutos y adicionados a la mezcla de ingredientes. La mezcla de alimento fue homogeneizada durante 5 min. Posteriormente se adiciono agua tibia en suficiente cantidad hasta formar una pasta consistente y fácil de compactar. Estas pastas fueron extruídas en un molino de carne Hobart con un dado con perforación de 1.6 mm. Los alimentos fueron secados en una estufa eléctrica ventilada durante 8 minutos a 100°C; posteriormente secados a temperatura ambiente durante 24 horas y almacenados a 4°C en contenedores de plástico.

Análisis químicos

La composición bromatológica de los alimentos fue determinada utilizando los siguientes métodos: proteína Kjeldahl (Tecator, 1987), lípidos Soxhlet (Tecator, 1983), ceniza AOAC (942.05, 1990) y fibra AOAC (962.09, 1990). El extracto libre de nitrógeno fue calculado por diferencia. La pérdida de proteína y materia seca después de una hora y dos horas de inmersión en agua marina (28°C y 35 g L⁻¹) fue determinada en las dietas experimentales (3 replicados por dieta) por el método Kjeldahl (Tecator, 1987) y Aquacop (1978) respectivamente, y utilizando las siguientes fórmulas: % Pérdida de materia seca = [(Peso del alimento en base seca antes de lixiviar - Peso del alimento en base seca después de lixiviar) / Peso del alimento en base seca antes de lixiviar] * 100; % Pérdida de proteína = [(% de proteína en el alimento*100) - (% de proteína en el alimento lixiviado * (100- % pérdida de materia seca en la dieta))] / % proteína en el alimento. La capacidad de absorción de agua del alimento se determino después de una hora de inmersión en agua marina, por diferencia de peso en proporción al peso inicial. La concentración de óxido de cromo y proteína en heces y alimentos fue determinada mediante la utilización de un método colorimétrico y por absorción atómica. La digestión de las muestras para ambos métodos así como la cuantificación de la proteína se llevo a cabo utilizando la combinación de los métodos Bolin y Kjeldahl (Nieto-López *et al.* 1997). Las fórmulas empleadas para determinar la digestibilidad de la proteína (DAPD) y de la materia seca (DAMS) fueron las siguientes: %DAPD = 100 - 100 (% cromo en el alimento/% cromo en las heces)(% proteína en las heces/% proteína en el alimento); %ADMD = 100 - 100 (% cromo en la dieta/ % cromo en las heces).

Condiciones experimentales

Tanto en el estudio I como en el II se realizó un bioensayo de crecimiento donde se evaluó el efecto de la inclusión de la harina de kelp sobre el crecimiento, consumo de alimento, tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica (PER), tasa instantánea de crecimiento IGR, sobrevivencia y biomasa. Para el primer experimento se utilizaron juveniles de camarón blanco *L. vannamei* proporcionados por el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNor) con un peso promedio inicial de 643 mg. Cada tratamiento (dietas 1 a 3) fue evaluado durante 28 días con 5 replicados, utilizando 10 organismos por acuario. Para el segundo se utilizaron juveniles de camarón blanco *L. vannamei* proporcionados por la compañía AHOME con un peso promedio inicial de 450 mg. Cada tratamiento (dietas 4 a 6) fue evaluado durante un periodo de 28 días con 4 replicados y 10 organismos por acuario. Para determinar el efecto de la inclusión de la harina de kelp mexicano sobre la digestibilidad de proteína y de la materia seca en los alimentos experimentales (dietas 5 a 6) se determino la digestibilidad *in vivo* en juveniles de camarón blanco *L. vannamei* (del mismo origen:

AHOME) con un peso promedio inicial de 3.8 g, 10 organismos por acuario y 4 replicados en el tiempo por tratamiento. El método utilizado para determinación de la digestibilidad de la proteína y de la materia seca fue mediante el uso del método indirecto con óxido de cromo. En los tres experimentos se midió diariamente la temperatura y la salinidad y semanalmente la concentración de nitritos, nitratos, amonio y pH del agua (Tabla 7), utilizando kits colorimétricos comerciales.

Tabla 7.- Parámetros de calidad del agua

	Temperatura (°C)	Salinidad (g/L)	pH	NH ₃ mg/L	NO ₂ mg/L	NO ₃ mg/L	PO ₄ mg/L
Bioensayo I	27.6±0.8	36±1.2					
Bioensayo II	29.4±0.7	31.9±1.1	8.0±0.1	0	0.6±0.3	140.8±0	0
Bioensayo III	28.2±0.9	32.3±1.2	7.9±0.04	0±0	0.83±0.3	123.2±35	0

Alimentación y registro del consumo de alimento

En los dos bioensayos de crecimiento, los camarones fueron alimentados a saciedad partiendo con un 10% de la biomasa presente en cada acuario. La tasa de alimentación fue ajustada diariamente hasta encontrar la menor cantidad de restos de alimento cada mañana. Los restos de alimento fueron estimados cada mañana en cada acuario como un porcentaje de la ración administrada el día anterior. Los alimentos fueron distribuidos dos veces al día para el primer experimento y para los 17 primeros días del segundo experimento, y 3 veces al día para el resto del segundo experimento. Se distribuyo por lo menos un mínimo de pelets equivalente al número de camarones por acuario. En el bioensayo de digestibilidad los camarones fueron alimentados de manera racionada a la cantidad de alimento del tratamiento menos consumido (dieta sin kelp).

Parámetros zootécnicos

Los parámetros biológicos evaluados fueron: peso individual, biomasa (suma de los pesos individuales de los camarones presentes en un acuario), ganancia en peso individual ($[(\text{peso individual promedio final} - \text{peso individual promedio inicial}) / \text{peso individual promedio inicial}] \times 100$), tasa de sobrevivencia $((\text{Número final} / \text{Número inicial}) \times 100)$, consumo individual (Σ_1^{28} (consumo en el acuario el día i/ número de camarones el día i), tasa de conversión alimenticia (consumo individual estimado/incremento en peso individual promedio), PER (incremento en peso (g) /cantidad de proteína consumida(g) y tasa instantánea de crecimiento $\text{IGR} = ([100 * \ln (\text{Peso final} / \text{Peso inicial})] / \text{duración del bioensayo en días})$.

Análisis estadísticos

El peso individual fue usado para la comparación estadística (análisis de varianza) del peso promedio de los replicados en el interior de cada tratamiento particular, para validar los replicados. Una vez validados los replicados, los parámetros por acuario (biomasa final, ganancia en peso, sobrevivencia, consumo, tasa de conversión alimenticia, PER, IGR y digestibilidad de la proteína y de la materia seca de la dieta) fueron sometidos una prueba de análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de rangos (Duncan) para separar las medias entre tratamientos. Para el análisis entre tratamientos, los datos que se tomaron en cuenta fueron aquellos estimados en cada acuario.

Estudio III. Efecto de la relación proteína animal/vegetal, del nivel de proteína y de la inclusión de 3.2% de la harina de kelp mexicano sobre a) propiedades químicas y funcionales de alimentos comerciales y b) algunos parámetros zootécnicos en camarón blanco.

Con el fin de definir si la capacidad atractante y aglutinante de la harina de kelp esta relacionada con la proporción de proteína animal/vegetal en la formula y si con el uso de este aditivo atractante, es posible reducir el nivel optimo de proteína en el alimento para obtener el máximo crecimiento, 3 alimentos peletizados comerciales fueron elaborados por la compañía PIA S.A. (Tabla 8). Estos alimentos se formularon para tener 25 (dietas 7 y 8) y 40% (dieta 9) de proteína y una relación de proteína animal/vegetal 60/40, 41/59 y 51/49 respectivamente. Solo en los alimentos que contenían 25% de proteína se incluyo 3.2% de harina de kelp como atractante y aglutinante mientras que en el alimento que contenía 40% de proteína se utilizo un aglutinante comercial tipo urea formaldehído, debido a que con este nivel de proteína la compañía había constatado que la harina de kelp no tenía suficiente capacidad aglutinante. Las fuentes de proteína animal y vegetal utilizadas fueron harina de anchoveta mexicana y pasta de soya; el grano de trigo duro molido fue utilizado principalmente como fuente de energía para completar el 100% en las formulas. Una mezcla de aceite de anchoveta mexicano y lecitina de soya fue utilizada como fuente de ácidos grasos, fosfolípidos y energía.

Análisis de alimentos

Los alimentos fueron analizados en el Programa Maricultura en términos de análisis bromatológico, estabilidad en el agua y capacidad de absorción de agua de acuerdo a la metodología descrita en estudios I y II.

Tabla 8. - Composición de dietas comerciales evaluadas.

Dietas	7	8	9
Relación proteína animal/vegetal	60/40	41/59	51/49
Porcentaje teórico de proteína	25	25	40
Nivel de inclusión de kelp	3.2	3.2	0
Aglutinante sintético	0	0	1
Composición química analizada (%, base húmeda)			
Humedad	10.81	10.79	9.43
Proteína	26.11	28.48	41.20
Lípidos	6.98	7.02	7.85
Cenizas	5.24	5.19	7.10
Fibra	1.71	2.22	2.63
Extracto libre de nitrógeno	49.15	45.27	29.51
Energía bruta (Kcal. g ⁻¹) ¹	4.64	4.68	4.85
Relación proteína/Energía ¹ mg proteína Kcal. ⁻¹	63.1	70.7	99
Pérdida de materia seca ² (%)	4.41±.25a	5.73±.95a	8.48±.78b
Pérdida de proteína ³ (%)	9.3±1.4	9.1±0.7	7.2±1.7
Absorción de agua (%)		104.8±1.8	70.2±2.1

Ingredientes utilizados: harina de anchoveta, pasta de soya, grano de trigo duro, aceite de anchoveta y lecitina de soya.

¹ Energía 5.6 Kcal. /g para proteína, 9.5 Kcal./g para lípidos y 4.1 Kcal. /g para carbohidratos (Tacon, 1989).

² P = 0.0013.

³ P = 0.1798.

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Condiciones experimentales

Los 3 alimentos comerciales fueron evaluados en un periodo de 4 semanas en juveniles de camarón blanco *L. vannamei* proporcionados por AHOME II con un peso promedio de 525 mg. Cada alimento (dietas 7 a 9) fue evaluado en acuarios de fibra de vidrio con una capacidad de 60lts con 4 replicados (4 acuarios) y 10 organismos por acuario. Dichos acuarios forman parte de un sistema cerrado de agua marina sintética con valores homogéneos de salinidad, temperatura y oxígeno. Se controlaron los mismos parámetros de calidad de agua mencionados anteriormente (Tabla 9).

Tabla 9.- Parámetros de calidad de agua

Temperatura (°C)	Salinidad (g/L)	pH	NH ₃ mg/L	NO ₂ mg/L	NO ₃ mg/L	PO ₄ mg/L
28.1±1.0	34.1±0.8	8.1±0.2	0.0±0	0.6±0.4	93.9±41	0.0±0

Alimentación y registro del consumo de alimento

Los camarones fueron alimentados a saciedad partiendo con un 10% de la biomasa presente en cada acuario (lo que equivaldría aproximadamente a 0.50 g de alimento por acuario), esta cantidad de alimento fue dividida en dos raciones diarias para ser suministrados a las 9:00 y 17:00 hrs. Debido a que el día siguiente no se encontraron restos de alimento el porcentaje de alimentación fue incrementado hasta encontrar restos de alimentos (11% de la biomasa); estos ajustes fueron realizados diariamente a lo largo del presente trabajo con el fin de obtener la mínima cantidad de restos de alimentos.

Análisis corporal de camarones

Al finalizar el experimento, se tomo una muestra de cinco camarones de cada uno de los replicados de los diferentes tratamientos para determinar su composición química. Las muestras fueron liofilizadas y almacenadas hasta su posterior análisis. Las metodologías utilizadas para la determinación del contenido de proteína, humedad, lípidos y ceniza fueron las mismas que se emplearon en el análisis químico de los alimentos experimentales.

Excreción amoniaca

La cantidad de amonio excretado por los camarones alimentados con los diferentes tratamientos fue determinada en un periodo de 5 horas después de que los alimentos experimentales fueron ingeridos. Así mismo se determinó la cantidad de amonio excretado por los camarones sin alimentar en ese mismo lapso de tiempo. La excreción amoniaca fue determinada utilizando cámaras de vidrio de una capacidad de 1.7 L. Estas cámaras fueron colocadas en baño maría en acuarios de 60 L de fibra de vidrio para mantener la temperatura del agua constante. Se utilizaron tres camarones por esfera con un rango de peso entre 1.9 y 3.0 g y un volumen de agua de 1.1 L. El agua que se utilizó para este análisis fue tomada directamente de los acuarios anexos a las cámaras conteniendo oxígeno a saturación. Los organismos fueron alimentados con el 1% de la biomasa presente en cada cámara. Antes de alimentar, una muestra de agua procedente de cada cámara fue tomada para tener el valor de excreción amoniaca al inicio del experimento (T0), posteriormente los organismos fueron alimentados y a la hora después de haber ingerido el alimento, otra muestra de agua fue tomada para su análisis (T1); posteriormente se hizo un recambio del 100%; se retiraron los restos de alimento y esperó una hora más para realizar otra toma de muestra (T2). Este mismo

procedimiento se repitió hasta completar un período de muestro de 5 hrs. El contenido de amonio fue analizado inmediatamente después de haber realizado la toma de muestra. La concentración de amonio presente en las muestras fue analizada por el método indofenol descrito por Lind Owen (1979). Cada dieta fue analizada por cuadruplicado (4 acuarios) y cada muestra de agua fue analizada por triplicado. La hora a la cual se inicio el experimento fue alrededor de las 8 de la mañana y el último muestreo se realizó a las 12:30 PM. La excreción amoniaca fue calculada mediante la utilización de la siguiente fórmula: $\text{Excreción} = [((\text{Absorbancia} - 0.0355)/0.9938 (\text{mg L}^{-1})) * \text{Volumen de agua (L}^{-1}) * 1000] / \text{Biomasa (g)}$.

Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos evaluados se realizó un análisis de varianza de una vía y un test de comparación múltiple de rangos (Duncan) para separar las medias entre tratamientos. Para estos análisis los datos que se tomaron en cuenta fueron aquellos estimados por acuario: 4 valores por tratamiento.

Estudio IV. Capacidad aglutinante de la harina de kelp mexicana en alimentos peletizados comerciales

Con el fin de comparar los efectos aglutinantes y de absorción de agua de dos niveles de inclusión de harina de kelp mexicana, con el aglutinante sintético tipo urea-formaldehído, en alimentos peletizados con diferente nivel de proteína y relación proteína animal/vegetal, se fabricaron 13 alimentos, en la compañía PIA S.A. bajo el siguiente diseño:

Kelp (%)	Aglutinante sintético (%)	Nivel de proteína (Relación Prot. Animal/vegetal)			
		30% (41/59)	30% (60/40)	35% (41/59)	40% (51/49)
0	0.8	D1	D2	D3	D4 ¹
3	0	D5	D6	D7	D8
5	0	D9	D10	D11	D12
3	0.5				D13

¹ 1% Aglutinante sintético

Se procesaron tres series de esos 13 alimentos en lotes de 500kg usando los ingredientes de la compañía. El proceso consistió de pesado, vaciado, molienda, mezclado, pulverizado, acondicionamiento, peletizado, enfriado, aceitado y ensacado. Paralelamente, se monitoreo el tamaño de partícula de la mezcla de ingredientes de cada alimento, a partir de una muestra colectada a la salida del pulverizador, midiendo el porcentaje de retención de mezcla de ingredientes molidos en un tamiz malla 60 y midiendo el tamaño de promedio de partícula (DGW) y la uniformidad de tamaño de partícula (SGW) con un juego de tamices de acuerdo al método reportado por Behnke (1985). Para confirmar la buena preparación de cada alimento, se determino el contenido de proteína cruda de cada alimento con el método Kjeldahl. También se determino la estabilidad en el agua de los alimentos terminados, colectados a la salida de la peletizadora después de agregar el aceite de manera manual en el laboratorio, midiendo el porcentaje de pérdida de materia seca y de proteína del alimento después de 1 hora de inmersión en agua marina a una temperatura de 28°C y una salinidad de 35g/L, así como la capacidad de absorción de agua de los pelets y el contenido de proteína antes y después de lixiviar, de acuerdo a la metodología reportada en estudios I y II.

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza de 1 vía seguido de una prueba de medias de Duncan, para determinar e identificar diferencias significativas de los parámetros evaluados entre todos los tratamientos. Enseguida, se realizó un análisis factorial para determinar el efecto de los factores: a) nivel de inclusión del kelp, b) combinación: nivel de proteína y relación proteína animal/vegetal y c) serie. También se realizó un análisis factorial considerando solo los alimentos con 30% de proteína y los factores: a) relación proteína animal/vegetal y b) nivel de inclusión de kelp.

RESULTADOS

Estudios I y II. Efecto de la inclusión de 2 niveles de kelp en alimentos experimentales

a) propiedades químicas y funcionales de los alimentos

Los alimentos experimentales, con los que se evaluó la harina de kelp chilena (1, 2 y 3) y mexicana (4, 5 y 6), presentaron el contenido iso-proteico e iso-lipídico esperado. Solo con la inclusión de 8% de harina de kelp el contenido de ceniza y fibra aumento significativamente con respecto al alimento control, pasando de 6.6 a 9.3% y de 0.99 a 1.4 (Tablas 5 y 6).

Por otro lado, la inclusión de 4% harina de kelp chilena no modifico la PMS con respecto al alimento control, mientras que la inclusión de 8% la aumento significativamente pasando de 7.8 a 12.3% ($P=0.0106$). Esto, a pesar de que el gluten de trigo, utilizado como aglutinante, haya sido incluido al 8% en los 3 alimentos. En el caso de los alimentos donde se incluyo la harina de kelp mexicana (2-4%), la PMS también aumento de manera significativa ($P=0.0001$) pasando de 8.25 a 11.2 y 12.6% respectivamente; pero en este caso, el aglutinante del alimento control (3% alginato de sodio puro más 1% de hexametáfosfato de sodio) fue sustituido totalmente por la harina de kelp que contiene aproximadamente un 25% de alginatos, por lo que el nivel de alginato globalmente fue menor en los alimentos con harina de kelp, lo que podría explicar las diferencias encontradas.

La capacidad de absorción de agua de los pelets aumento proporcionalmente ($R^2=0.95$) en función del contenido de alginato en los alimentos (Fig. 2), reteniendo hasta un 180% de su peso de agua con el 3% de alginato puro y el hexametáfosfato en el alimento control, un 130% con 2% de kelp (0.5% de alginato) y un 150% con 4% de kelp (1.7% de alginato).

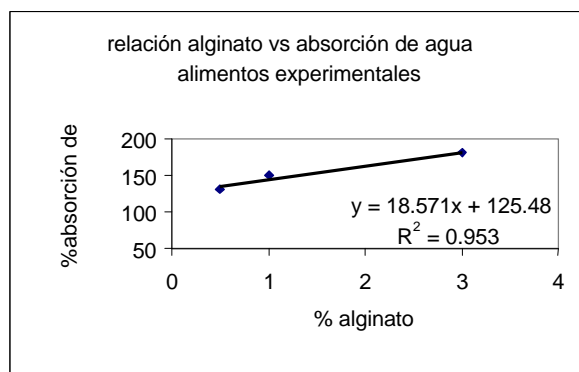


Figura 2.- Regresión de la capacidad de absorción de agua en función del nivel de inclusión de alginato.

b) Parámetros zootécnicos

El consumo de alimento se incremento de manera altamente significativa ($P=0.000$ y 0.000) con los diferentes niveles de inclusión tanto de la harina de kelp chilena como mexicana en los 2 bioensayos (Tabla 10 y 11). Pero los organismos alimentados con el kelp chileno a 4 y 8% incrementaron el consumo de alimento solo en un 17 y 41%, mientras que los que se alimentaron con las dietas suplementadas con el kelp mexicano (2 y 4%) aumentaron su consumo en un 142 y 157% con respecto al control. De la misma manera la ganancia en peso y la IGR fue mejorada con la inclusión de la harina de kelp (Tablas 10 y 11) pero este efecto solo fue significativo ($P=0.005$ y 0.004), en el caso de la inclusión de 2 y 4% de la harina de kelp mexicano donde se mejoró la ganancia en peso en un 53 y 68% y el IGR se incremento de 4.74 a 5.93 y 6.18%. Tanto la suplementación de la harina de kelp chileno como mexicano incrementaron la tasa de conversión alimenticia y disminuyeron la eficiencia de utilización proteica, pero nuevamente este efecto solo fue significativo en el bioensayo con la harina mexicana. La supervivencia en ambos experimentos fue excelente superior al 94%. La producción de biomasa fue mejor con la inclusión de las diferentes harinas de algas pero solo la harina de kelp mexicana incremento este parámetro de manera significativa ($P=0.009$) en un 48 a 49% con respecto al control.

Tabla 10.- Resultados del bioensayo de crecimiento en juveniles de camarón blanco con harina de kelp chileno.

Dietas	1	2	3	Valor F	Prob ANOVA.	Significancia
% Kelp	0	4	8			
Peso (g)						
Inicial	0.641±0.09	0.641±0.08	0.647±0.08	0.0998	0.9051	NS
14 días	.99±.24	1.00±.24	1.10±.26	2.9712	0.0543	S*
28 días	1.47±.47	1.54±.39	1.62±.47	1.5191	0.2225	NS
Consumo de alimento (g/individuo)						
14 días	.99±.03a	1.17±.04b	1.34±.05c	111.44	0.0000	S**
28 días	2.12±.10a	2.49±.05b	2.99±.27c	31.9587	0.0000	S**
Ganancia en peso (%)						
14 días	54.65±12	56.87±10	70.94±24	1.4113	0.2815	NS
28 días	128.78±22	139.98±15	151.28±29	1.2771	0.3142	NS
IGR						
14 días	3.10±0.54	3.20±0.48	3.78±0.98	1.349	0.296	NS
28 días	2.94±0.35	3.12±0.22	3.27±0.41	1.195	0.336	NS
TCA						
14 días	2.94±.63	3.29±.62	3.16±.94	0.2730	0.7657	NS
28 días	2.63±.42	2.80±.27	3.12±.54	1.7439	0.2163	NS
PER						
14 días	1.01±0.21	0.90±0.16	1.00±0±.32	0.301	0.745	NS
28 días	1.11±0.15	1.04±0.10	0.96±0.15	1.602	0.242	NS
Biomasa (g)						
14 días	9.91±.76	10.04±.58	11.07±1.62	1.7098	0.2221	NS
28 días	13.77±1.88	15.07±1.15	15.59±1.80	1.6143	0.2394	NS
Sobrevivencia (%)						
14 días	100	100	100	-	-	NS
28 días	94±9.8	98±4.5	96±5.5	0.4615	0.6410	NS

NS= no significativo (P>0.05)

S*= Significativo (P<0.05)

S**= Altamente significativo (P<0.01).

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Tabla 11.- Resultados del bioensayo de crecimiento en juveniles de camarón blanco con harina de kelp mexicano.

Dietas	4	5	6	Probabilidad	Significancia
% Kelp	0	2	4		
Peso promedio (mg)					
Inicial	451±88	470±86	453±76	0.5422	NS
14 días	1000±252a	1154±255b	1192±209b	0.0011	S**
28 días	1703±508a	2477±638b	2593±614b	0.0000	S**
Consumo de alimento (g/individuo)					
14 días	0.60±.01a	1.02±.08b	1.13±.15b	0.0001	S**
28 días	1.68±.10a	4.07±.42b	4.32±.67b	0.0000	S**
Ganancia en peso (%)					
14 días	121.7±13a	145.6±9b	163.2±5c	0.0006	S**
28 días	279.2±51a	427.3±27b	470.0±91b	0.0046	S**
IGR					
14 días	5.68±.42a	6.42±.26b	6.91±.14c	0.0008	S**
28 días	4.74±.49a	5.93±.18b	6.18±.57b	0.0028	S**
TCA					
14 días	1.11±.12a	1.49±.18b	1.52±.20b	0.0115	S*
28 días	1.36±.22a	2.03±.24b	2.04±.18b	0.0024	S**
PER					
14 días	3.29±.36b	2.43±.28a	2.35±.31a	0.0040	S**
28 días	2.70±.47b	1.79±.21a	1.74±.16a	0.0030	S**
Sobrevivencia (%)					
14 días	100±0	100±0	100±0	-	
28 días	97.5±5	100±0	95±6	0.3227	NS
Biomasa					
14 días	10.0±0.7a	11.5±0.6b	11.9±0.3b	0.0019	S**
28 días	16.6±1.8a	24.8±1.7b	24.6±5b	0.0087	S**

NS= no significativo ($P>0.05$)

S*= Significativo ($P<0.05$)

S**= Altamente significativo ($P<0.01$).

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Digestibilidad de los alimentos

La sustitución del alginato (3%) por la harina de kelp mexicano no modificó significativamente la digestibilidad aparente de la proteína en los alimentos experimentales; aunque ésta se incremento hasta en un 3.6% cuando esta fue adicionada en 4%. Sin embargo, la digestibilidad aparente de la materia seca si fue significativamente mejorada (Tabla 12); la inclusión de 4% de la harina de kelp incrementó este parámetro hasta en un 6.8%.

Tabla 12.- Análisis estadísticos digestibilidad de la proteína y de la materia seca de las dietas experimentales suplementadas con la harina de kelp mexicano.

		% Inclusión de kelp			Significancia
Método		0	2	4	
Calorimétrico	DAPD	80.3±2.0a	82.4±2.2b	82.9±0.9b	0.0327
	DAMS	67.9±3.7a	74.1±0.9b	77.5±1.9c	0.0000
Absorción atómica	DAPD	86.3±1.6a	88.9±2.3a	89.5±3a	0.155
	DAMS	78.2±4.3a	82.6±2.9b	83.5±1.6b	0.027

NS= no significativo ($P>0.05$)

S*= Significativo ($P<0.05$)

S**= Altamente significativo ($P<0.01$).

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Es importante mencionar que se ha reportado que la inclusión en exceso (más de 15%) de alginatos en alimentos para peces disminuye significativamente su digestibilidad (Riaza 1986). Considerando esto, es posible que la mejor digestibilidad encontrada en los alimentos con kelp con respecto al alimento control en este experimento, este relacionado al contenido de alginato en los alimentos, ya que el contenido teórico de alginato en las formulas con 2 y 4% de harina de kelp fue de 0.5 y 1% en contraste con el 3% de alginato puro incluido en el alimento control. De hecho al graficar los valores de estos dos parámetros se encontró una relación polinomial de segundo orden con un R^2 igual a 1, lo que refuerza esta hipótesis.

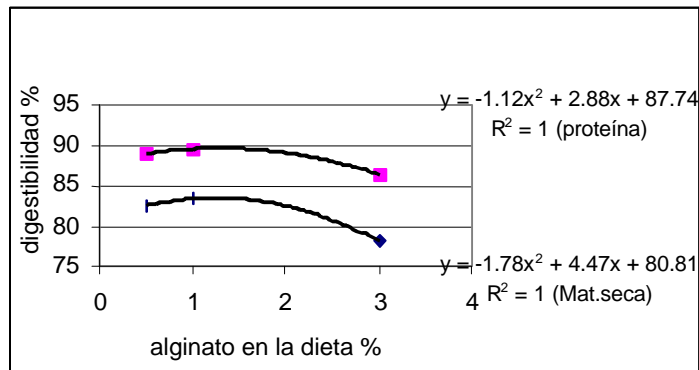


Fig. 3.- Relación del contenido teórico de alginato en los alimentos con la digestibilidad de la materia seca y de proteína de los alimentos experimentales.

Estudio III. Efecto relación proteína animal/vegetal, el nivel de proteína y la inclusión de 3.2% de la harina de kelp mexicano en alimentos peletizados comerciales para camarón blanco.

a) propiedades químicas y funcionales de alimentos

La composición bromatológica de los alimentos peletizados comerciales (7, 8 y 9) presento pocas diferencias con respecto a los valores teóricos planeados en el diseño de las formulas, excepto en el caso de la dieta 8 donde la proteína fue de un 28.5% en lugar de un 25%.

La PMS de los alimentos con 26 y 28% de proteína (7 y 8) donde se incluyo 3.2% de kelp como aglutinante, fue significativamente menor ($P=0.0013$) en comparación con la dieta 9, que contenía un alto contenido proteico 41% y un aglutinante sintético. (Tabla 8). Cabe señalar que aunque las diferencias en PMS de los alimentos 7 y 8 no fueron significativas, la PMS fue menor en la dieta 7 donde la proteína de origen animal (harina de pescado) fue dominante.

En cuanto a la capacidad de absorber agua, el alimento 8 con harina de kelp presentó una mayor capacidad (104.8%) que el alimento 9 con aglutinante sintético (70.2%)(Tabla 8).

b) Parámetros zootécnicos

Entre los alimentos con 25% de proteína y harina de kelp, el alimento que contenía proteína animal dominante presentó los mejores resultados en cuanto a consumo de alimento 36% mayor ($P=0.0001$) y como consecuencia, una mayor ganancia en peso (29.4%, $P=0.0048$), una mayor IGR (18.2%, $P=0.006$) y una mayor producción biomasa (14.4%, $P=0.0007$; Tabla 13). Por otro lado, no se presentaron diferencias significativas entre los alimentos 8 y 9 a pesar de que contenían 25 y 40% de proteína, en ninguno de los parámetros, excepto en el PER y la tasa de conversión alimenticia que al igual que en los experimentos anteriores fue significativamente mayor cuando se incluyo 3.2% de harina de kelp. La supervivencia fue excelente en todos los tratamientos, siendo este mayor al 97% al final del experimento.

Tabla 13.- Resultados del bioensayo de crecimiento en camarón blanco con alimentos comerciales usando harina de kelp o aglutinante sintético.

Dietas	7	8	9	Probabilidad	Significancia
% Kelp	3.2	3.2	0		
aglutinante sintético	0	0	1		
Peso promedio (mg)					
inicial	530±16	531±12	529±7	0.9835	NS
14 días	975±57	964±27	1007±36	0.3569	NS
28 días	1562±72b	1330±72a	1363±71a	0.0027	S**
Consumo de alimento(g)					
14 días	0.75±0.03b	0.66±0.05a	0.63±0.04a	0.0061	S**
28 días	2.00±.13b	1.47±.11a	1.40±.11a	0.0001	S**
Ganancia en peso (%)					
14 días	84.0±9.1	81.6±5.2	90.3±5.5	0.2312	NS
28 días	195.0±6b	150.6±13.8a	157.6±14.8a	0.0048	S**
IGR					
14 días	2.18±0.2	2.13±0.1	2.30±0.1	0.2339	NS
28 días	3.9±0.2b	3.3±0.2a	3.4±0.2a	0.0057	S**
TCA					
14 días	1.69±0.13c	1.53±0.05b	1.33±0.06a	0.0008	S**
28 días	1.94±.17b	1.85±.04ab	1.68±.10a	0.0295	S*
PER					
14 días	2.28±.18b	2.21±.07b	1.74±.08a	0.0003	S**
28 días	1.98±.17b	1.83±.04b	1.37±.08a	0.0001	S**
Sobrevivencia (%)					
14 días	100±0	100±0	100±0	1.0000	NS
28 días	97.5±5	100±0	97.5±5	0.6224	NS
Biomasa (g)					
14 días	9.75±.57	9.64±.27	10.07±.36	0.3569	NS
28 días	15.21±.43b	13.30±.72a	13.26±.33a	0.0007	S**

NS= no significativo ($P>0.05$)

S*= Significativo ($P<0.05$)

S**= Altamente significativo ($P<0.01$)

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Análisis corporal de los camarones

La composición química de los camarones alimentados con las diferentes dietas experimentales es presentada en la Tabla 14. Los contenidos de humedad, proteína y ceniza no fueron afectados significativamente por las diferentes dietas experimentales presentándose valores promedios de 8.1, 13.8 y 2.5% respectivamente. Sin embargo, el contenido de lípidos fue ligero pero significativamente mayor en los organismos alimentados con la dieta 7 que presentaron 1% de lípidos en su tejido; mientras que los que

consumieron las dietas 8 y 9 con mayor contenido de proteína vegetal presentaron valores significativamente menores de 0.8%.

Tabla 14.- Composición química de los organismos alimentados con dietas conteniendo diferentes niveles de proteína y relaciones de proteína animal/vegetal.

Dietas	7	8	9	Probabilidad	Significancia
Humedad	80.96±1.24	80.73±1.05	81.19±2.20	0.6679	NS
Proteína	13.82±0.54	13.86±0.49	13.83±1.48	0.8224	NS
Lípidos	1.11±0.13b	0.85±0.07a	0.88±0.16a	0.0455	S*
Ceniza	2.55±0.24	2.58±0.14	2.35±0.09	0.1352	NS

NS= no significativo ($P>0.05$)

S*= Significativo ($P<0.05$)

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Excreción amoniacal

La excreción de amonio al cabo de 5 horas de muestreo de los organismos alimentados con la dieta que contenía 40% de proteína fue significativamente mayor ($P = 0.0661$) que la de los camarones alimentados con 25% de proteína (Fig. 4).

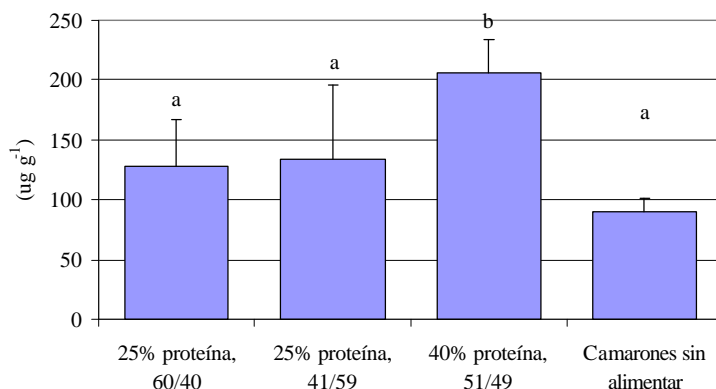


Fig. 4.- Excreción de amonio total.

Capacidad aglutinante de la harina de kelp mexicana en alimentos comerciales peletizados

El contenido de proteína de los diferentes alimentos correspondió con los valores teóricos esperados excepto en los casos de los alimentos 9a, 1b, 8c, 12c y 13c, los cuales presentaron mas de 3 puntos porcentuales de diferencia. Con ello se confirma que de manera general no hubo errores en el pesaje de los ingredientes con excepción de esos 5 alimentos. El tamaño promedio de partícula fue excelente (218.8 micras) y no se presentaron diferencias significativas ($P= 0.248$) entre los alimentos. En promedio el 89.44% de la mezcla de cada alimento paso la malla 60 ($P= 0.999$), presentando además un alto grado de uniformidad en el tamaño de partícula $sgw=1.601$ ($P=0.616$) (Tabla 15). La uniformidad y fineza en el tamaño de partícula de la mezcla de ingredientes, son factores que juegan

un papel importante sobre la estabilidad de los alimentos en el agua. Como no se presentaron diferencias entre alimentos se puede considerar que estos parámetros fueron constantes y no afectaron de manera diferente cada tratamiento, sin embargo si afectaron los resultados globales y por lo tanto era importante definirlos.

Tabla 15.- Tamaño de partícula, PMS y absorción de agua de los alimentos peletizados

Dieta	DGW	SGW	% pasaje malla 60	% PMS	% Pérdida de proteína	% Absorción de agua
1	208±7	1.7±0.1	90±2	2.7±0.9bc	1.95±1.13	70.6±3.9b
2	229±9	1.6±0.1	89±3	1.8±0.3a	1.27±.73	64.5±0.3a
3	221±14	1.6±0.1	90±6	2.5±0.4b	.88±.51	64.8±3.5a
4	220±17	1.6±0.1	89±4	3.7±0.3de	2.36±1.36	66.0±1.8ab
5	209±6	1.6±0.003	88±5	2.9±0.5bc	2.35±1.36	116.5±4.1e
6	218±13	1.7±0.005	90±6	2.5±0.6b	.13±7.44	102.2±3.5d
7	238±30	1.6±0.1	88±6	3.5±0.3de	1.89±1.09	121.4±2.8e
8	224±8	1.6±0.1	89±2	3.6±0.2de	.254±.14	130.4±1.2f
9	209±5	1.6±0.002	89±2	4.5±0.4f	2.21±1.27	129.9±1.3f
10	213±11	1.6±0.003	90±2	3.3±0.4cd	1.10±.64	134.5±1.3fg
11	210±6	1.6±0.1	89±2	4.3±1.0f	1.09±.63	145.3±5.1h
12	219±16	1.6±0.1	91±5	4.5±0.5f	1.13±.65	137.4±2.6g
13	226±11	1.6±0.04	90±4	4.0±0.7ef	1.03±.59	93.4±3.2c
Prob. ANOVA	0.248	0.616	0.999	0.000	0.134	0.000
Significancia	NS	NS	NS	S**	NS	S**

NS= no significativo (P>0.05)

S*= Significativo (P<0.05)

S**= Altamente significativo (P<0.01).

Letras en el mismo renglón indican diferentes grupos homogéneos definidos por la comparación múltiple de medias de Duncan (alfa = 0.05).

Pérdida de materia seca

La estabilidad de todas las dietas fue excelente (Tabla 15), con valores de PMS después de una hora de lixiviación, de 1.8 a 4.5%, inferiores al promedio en alimentos comerciales (5-8%). Sin embargo, se encontraron PMS significativamente diferentes entre los alimentos (Fig. 5), siendo mayores estas PMS en los alimentos con harina de kelp y en los alimentos con alto contenido proteico.

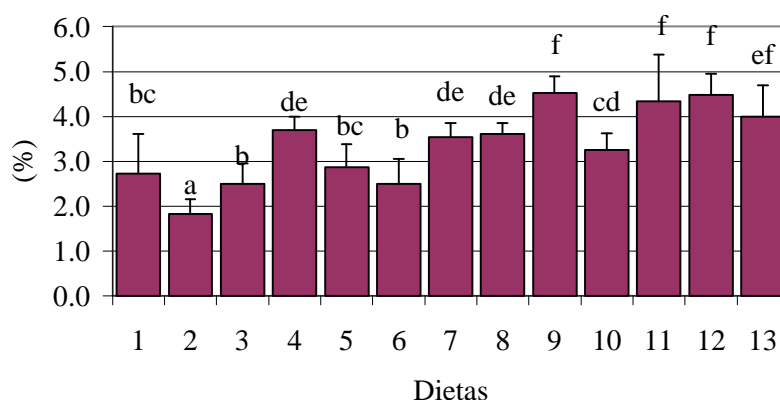


Fig. 5.- Por ciento de pérdida de materia seca de los alimentos después de 1 hora de inmersión en agua marina.

De acuerdo con el análisis factorial global (Tabla 16), el reemplazo del aglutinante sintético por la harina de kelp, provocó un incremento significativo (pero ligero) de la PMS (2.7 a 3.1 y 4.2%). Los diferentes niveles de proteína así como la proporción animal/vegetal también generaron diferencias significativas: las PMS fueron menores en las dietas con baja (30%) proteína, especialmente con la proteína de origen animal predominante. Se observó una interacción altamente significativa entre el porcentaje de PMS y el nivel de inclusión de la harina de kelp, nivel de proteína y relación animal/vegetal; los alimentos que contenían los mayores porcentajes de proteína dietaria y una relación proteína animal/vegetal 51/49 presentaron las mayores PMS (Fig 6).

Tabla 16.- Análisis factorial del efecto de la combinación proteína relación animal/vegetal , Inclusión de harina de kelp y serie sobre el porcentaje de pérdida de materia seca

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	Df	Cuadrados medios	F	Sig.
Modelo corregido	98.616	35	2.818	56.726	.000
Intercepto	1192.714	1	1192.714	24012.648	.000
Combinación	27.512	3	9.171	184.629	.000
% Inclusión de kelp	40.589	2	20.295	408.589	.000
Serie	7.354	2	3.677	74.033	.000
Combinación * % inclusión de kelp	6.106	6	1.018	20.488	.000
Combinación * serie	6.144	6	1.024	20.615	.000
% inclusión de kelp * serie	3.485	4	.871	17.543	.000
Combinación * % inclusión de kelp * serie	7.426	12	.619	12.459	.000
Error	3.576	72	4.967E-02		
Total	1294.907	108			
Total corregido	102.193	107			

^a $R^2 = .965$ (R^2 ajustada = .948)

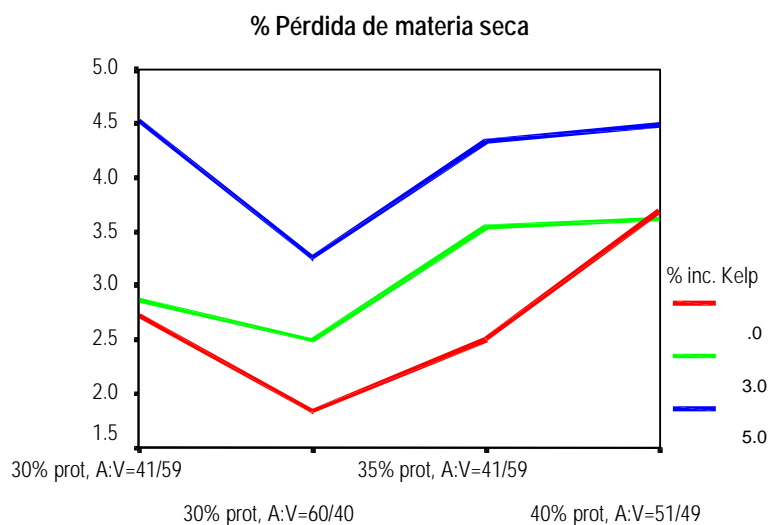


Fig 6. Porcentaje de pérdida de materia seca de los alimentos con diferentes niveles de kelp y diferentes combinaciones de proteína animal/vegetal, después de una hora de lixiviación.

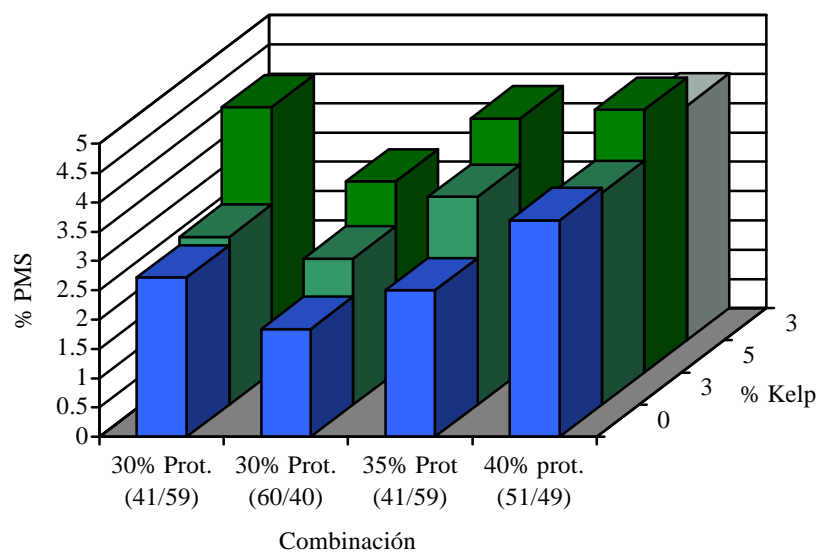


Fig.7. Efecto del nivel de kelp y de la combinación: nivel de proteína relación proteína animal/vegetal, sobre la pérdida de materia seca del alimento después de una hora de lixiviación.

Por otro lado, el porcentaje de PMS en las diferentes dietas fue afectado significativamente por la serie o corrida de fabricación de alimento; la PMS para los alimentos fabricados en la serie 1, 2 y 3 fue de 3.02%, 3.295 y 3.66% respectivamente. Sin embargo, el tamaño promedio de partícula no fue responsable de este efecto, ya que este parámetro no presentó diferencias significativas entre tratamientos.

La adición de 0.5% de aglutinante sintético en combinación con 3% de harina de kelp, al alimento con 40% de proteína, permitió reducir la PMS en un 10.7%.

Porcentaje de absorción de agua

La inclusión de harina de kelp prácticamente duplicó la capacidad de absorción de agua en los alimentos peletizados (Tabla 12) dando con esto una consistencia suave y esponjosa (de carne reconstituida), en comparación con el pelet control de consistencia dura; de acuerdo con el análisis factorial el porcentaje de absorción de agua promedio después de una hora de inmersión fue de 66.5, 117.6 y 136.8% para los alimentos comerciales con 0, 3 y 5% de harina de kelp (Fig 8). El valor promedio de absorción de agua del alimento control coincidió con el promedio que se presenta en alimentos comerciales peletizados con 36% de proteína y sin inclusión de kelp que es de 55 %.

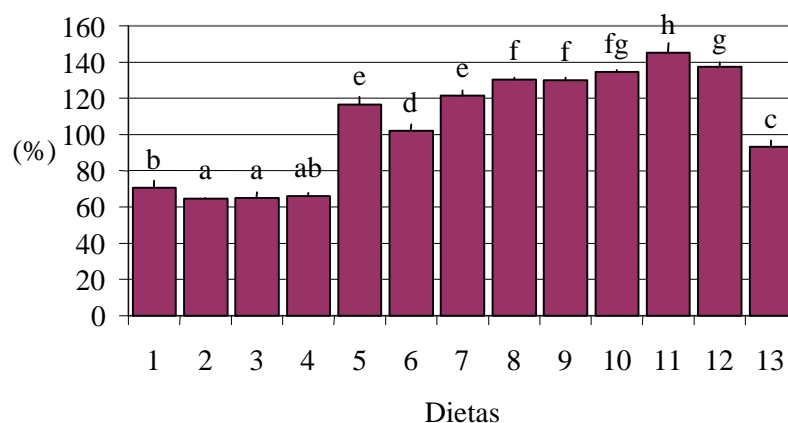


Fig. 8.- Porcentaje de absorción de agua de los alimentos comerciales después de 1 hora de inmersión en agua marina

De acuerdo con el análisis factorial, esta capacidad de absorción de agua también fue afectada de manera significativa por los factores nivel de inclusión de kelp y nivel de proteína en los alimentos y por sus combinaciones (Tabla 17); a mayor contenido de proteína en el alimento mayor fue la capacidad de absorción de agua especialmente cuando la proteína vegetal fue mayoritaria; los alimentos con menor porcentaje de proteína y una proporción de proteína animal predominante presentaron el menor porcentaje de retención de agua (Fig 9 y 10).

Tabla 17.- Análisis factorial del efecto de la combinación: proteína, relación animal/vegetal y harina de kelp sobre el porcentaje de absorción de agua.

Fuente	Suma de cuadrados Typo III	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Modelo corregido	33397.199	11	3036.109	349.109	.000
Intercepto	411825.949	1	411825.949	47354.096	.000
Combinación	678.937	3	226.312	26.023	.000
% Inclusión de kelp	31708.550	2	15854.275	1823.015	.000
Combinación * % inclusión de kelp	1009.712	6	168.285	19.350	.000
Error	208.722	24	8.697		
Total	445431.870	36			
Total corregido	33605.921	35			

a $R^2 = .994$ (R^2 ajustada .991)

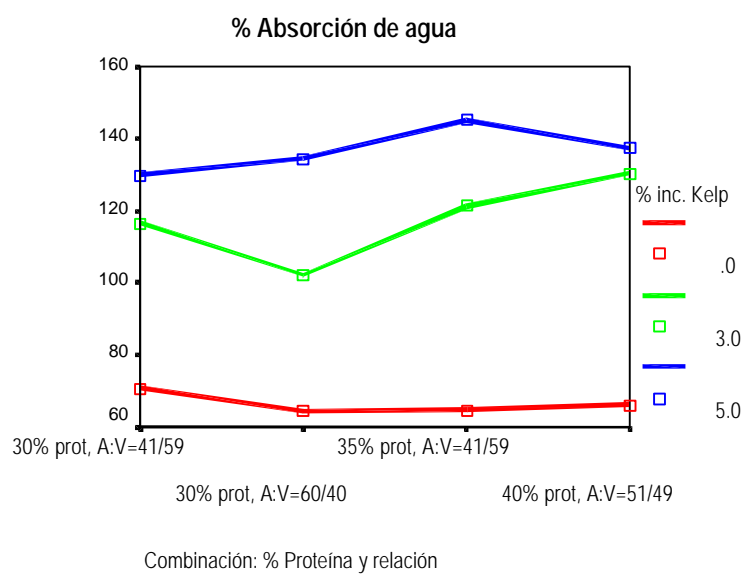


Fig.9.- Efecto del nivel de kelp y de la combinación: nivel de proteína relación proteína animal/vegetal, sobre el porcentaje de la absorción de agua del alimento después de una hora de lixiviación

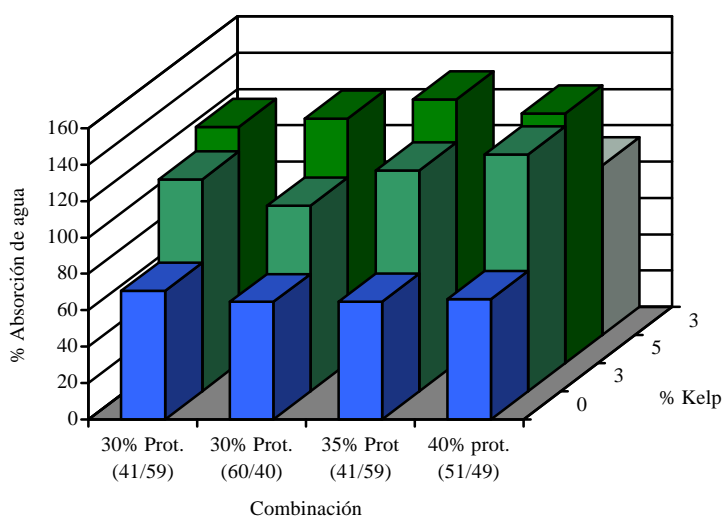


Fig. 10.- Efecto del nivel de kelp y de la combinación: nivel de proteína relación proteína animal/vegetal, sobre la absorción de agua del alimento después de una hora de inmersión.

Relación capacidad de absorción de agua y contenido de alginato en el alimento

De acuerdo con bibliografía, la capacidad de absorber agua de la harina de kelp esta relacionada al contenido de alginato y otros hidrocoloides presentes en el alga. En la Figura 11 se muestra la excelente correlación entre la capacidad de absorber agua y el contenido teórico de alginato presente en los alimentos peletizados, calculado con base a un contenido de 25% de alginato en la harina de kelp.

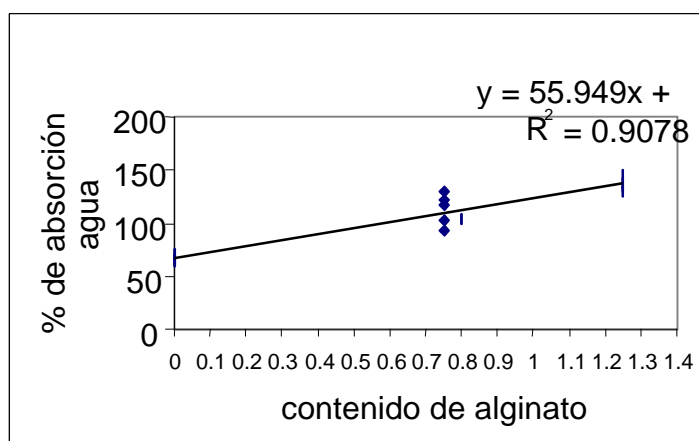


Fig. 11.- Relación entre contenido teórico de alginato en los alimentos (%) y capacidad de absorción de agua (%)

Relación capacidad aglutinante (PMS) y contenido de alginato en el alimento

De acuerdo con bibliografía, la capacidad de aglutinar de la harina de kelp esta relacionada al contenido de alginato y otros ficocoloides presentes en el alga. En la Figura 12 se muestra la correlación entre la capacidad de aglutinar (medida en términos de PMS) y el contenido teórico de alginato presente en los alimentos peletizados. Se observa que la PMS en los alimentos puede variar para un mismo contenido de alginato o harina de kelp, en función de diversos factores, mencionados con anterioridad como composición de la formula, nivel de proteína y condiciones de proceso. De esta manera, en la grafica se puede observar que los valores más altos de PMS se presentaron en los alimentos con más proteína independientemente del aglutinante empleado y que la mayor eficiencia aglutinante del alginato se presento al nivel de 0.75% (3% de kelp) y con los alimentos con bajo nivel de proteína (30%).

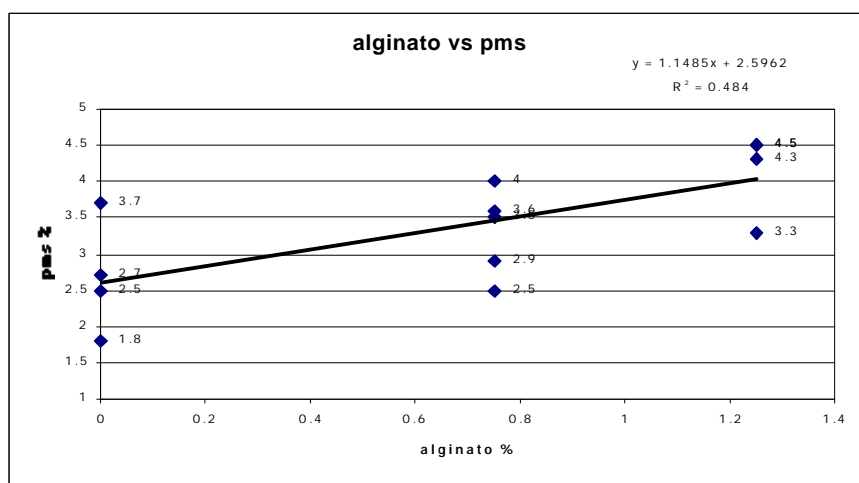


Fig. 12.- Relación entre capacidad aglutinante (PMS) y contenido de alginato en el alimento

Efecto de la relación proteína animal/vegetal.

En los alimentos con 30% de proteína, cuando la proteína animal marina fue mayoritaria, la estabilidad de los alimentos fue significativamente mejor (Tabla 18 y 19). En general la PMS y la capacidad de absorber agua fue menor cuando la proteína animal marina fue mayoritaria. Sin embargo, esta diferencia disminuyo con el nivel de inclusión (5%) de la harina de kelp (Fig. 13). Es posible que la mejor estabilidad cuando la harina de pescado es mayoritaria se presente debido a una mayor proporción de Ca y de trigo en el alimento ya que el Ca funciona como un agente polimerizante formador de gel y el trigo como aglutinante.

Tabla 18.- Resultados de los análisis bi-factoriales de nivel de kelp vs relación proteína animal/vegetal, considerando solamente los alimentos con 30% de proteína

	DGW		SGW		% Pasaje malla 60		%PMS		% Pérdida de proteína		% Absorción de agua	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Relación proteína Vegetal/Animal	.814	.385	.151	.704	.079	.784	19.498	.000	1.949	.188	13.119	.005
% de Inclusión de kelp	.446	.651	1.419	.280	.392	.684	27.119	.000	2.277	.145	531.962	.000
Efecto combinado	.135	.875	1.293	.310	.125	.884	1.282	.287	1.831	.202	7.254	.011

Tabla 19. Pérdida de materia seca y capacidad de absorción de agua de alimentos peletizados con diferente relación proteína animal/vegetal y con diferentes niveles de inclusión de harina de kelp

		Proteína	30	30
Kelp	Agglutinante sintético	Relación proteína animal/vegetal	41/59	60/40
0	0.8	PMS	2.7	1.8
		Absorción de agua	70.6	64.5
3	0	PMS	2.9	2.5
		Absorción de agua	116.5	102.2
5	0	PMS	4.5	3.3
		Absorción de agua	130.0	134.5

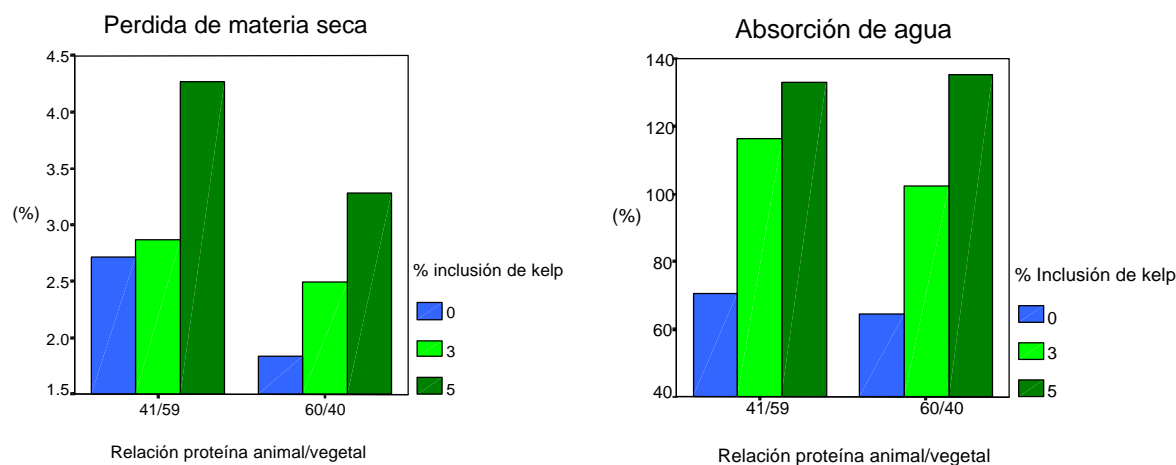


Fig.13.- Pérdida de materia seca y capacidad de absorción de agua de alimentos peletizados con diferente relación proteína animal/vegetal y con diferentes niveles de inclusión de harina de kelp.

DISCUSIONES

Efecto de la harina de kelp sobre las propiedades químicas y funcionales de los alimentos experimentales y comerciales

La inclusión de harina de kelp chilena y mexicana tiende a incrementar los niveles de ceniza y fibra en el alimento, especialmente si se agrega a niveles mayores de 4%. La harina de kelp tiene una capacidad aglutinante ligeramente menor a la del gluten de trigo (en alimentos experimentales) o la del aglutinante sintético tipo urea formaldehído (en alimentos peletizados comerciales), especialmente cuando se usa un nivel de inclusión superior al 4%. Por otro lado, la harina de kelp incrementa la capacidad de absorción de agua de los alimentos a través de sus compuestos ficocoloidales generando una actividad aglutinante por medio de la formación de un gel suave, que a su vez produce en el alimento una textura suave, de consistencia “surimi o carne reconstituida” que facilita el consumo del alimento por los camarones sin generar muchas migajas y que permite una mejor utilización de los nutrientes. Esto, es muy contrastante al compararlos con los alimentos control, aglutinados con aglutinantes sintéticos, que presentan una consistencia dura y poco absorbente.

Aparentemente, esta capacidad aglutinante y esta textura especial en el pelet son producidas gracias a la polimerización de los ficocoloides del kelp y a la formación de un gel, pero esta capacidad es afectada de manera significativa por varios factores como: 1) la composición de los ingredientes y de nutrientes del alimento por ejemplo 2) el tamaño de partícula de los ingredientes y 3) las condiciones de proceso. McHugh, (1987) en una revisión sobre producción, propiedades y usos de los alginatos reporta las capacidades aglutinantes y gelificantes del alginato en alimentos y menciona que la fuerza del gel depende de la composición del alginato, la cantidad de alginato y del calcio disponible para la polimerización que se lleva a cabo como se esquematiza con el modelo de “caja de huevo”. Cabe señalar que esta capacidad aglutinante de los alginatos “puros” ha sido relativamente poco utilizada en alimentos para acuicultura, especialmente en alimentos experimentales y alimentos para larvas, por su alto costo; en estos casos los niveles de inclusión generalmente son menores de un 5% en combinación con cloruro de calcio como agente polimerizante. El uso directo de la harina de alga, sin la extracción de los alginatos, como aglutinante, ciertamente permite una disminución de costos y una nueva forma de aplicación que además permite aprovechar de otras propiedades nutricionales del recurso.

Efecto de la harina de kelp sobre la digestibilidad de los alimentos

En algunos estudios como el de Riaza (1986) se ha reportado que el uso de altas concentraciones de alginato, (más de 15%) como aglutinante, en alimentos para peces reduce la digestibilidad de los alimentos. A este respecto, en este estudio se demostró que los niveles de inclusión de alginato que se aplicaron con la inclusión de harina de alga fueron relativamente bajos, entre 0.5 y 2%, y lejos de reducir la digestibilidad de los alimentos, esta se mejoró en comparación con el alimento control aglutinado con 3% de alginato puro. La diferencia en la digestibilidad entre alimentos comerciales peletizados con aglutinante sintético o con harina de kelp, también debe evaluarse; sin embargo es bien conocido el hecho de que algunos aglutinantes sintéticos disminuyen la digestibilidad de los alimentos.

Capacidad atractante y promotora del crecimiento

La inclusión de kelp aumenta significativamente la búsqueda y la ingesta del alimento, acciones que en conjunto fueron observadas y medidas a través de la determinación de la cantidad de alimento consumido. Esta capacidad atractante parece estar relacionada a compuestos propios del alga, pero también y de manera muy importante, al nivel de atractantes presentes en los otros ingredientes del alimento, como es el caso de la harina de pescado, ya que el consumo de alimento fue significativamente mayor cuando la harina de kelp se incluyó, a baja concentración, en alimentos experimentales y comerciales, con una mayor proporción de harina de pescado en contraste cuando se incluyó, a mayor concentración, en alimentos originalmente poco atractantes con alto contenido de proteína vegetal.

Cabe señalar, que en la industria farmacéutica los alginatos son usados por su capacidad de formar geles o películas que permiten una liberación retardada y prolongada de compuestos químicos activos (McHugh, 1987). Es posible que este mecanismo de acción se esté desarrollando en el caso de la liberación de moléculas atractantes desde el alimento hacia el medio, lo que aunado a la textura y consistencia del alimento favorece a la utilización más eficiente de los nutrientes por el camarón.

Los compuestos propios de la harina de kelp con capacidad atractante pueden ser múltiples, pero de acuerdo a diversos autores (Heinen, 1980; Carr y Derby, 1986; Tierney y Atema, 1988), los aminoácidos, los compuestos nitrogenados volátiles y algunos azúcares podrían estar participando en esta función.

La capacidad atractante del kelp ha sido reportada con anterioridad en estudios de alimentación con abulones y con erizos (Viana *et al.* 1994; Lawrence *et al.* 1997) donde se encontró que aumentaban el consumo y derivado de ello también el crecimiento. En el caso de los camarones esta respuesta también se presentó. Con el incremento de consumo de alimento, el crecimiento también aumentó significativamente aunque a una tasa inferior, lo que dio como resultado una tasa de conversión mayor. Cabe señalar que este efecto fue provocado en el bioensayo, debido a que el alimento fue suministrado a saciedad durante el periodo de evaluación con el fin de permitir la máxima respuesta. Sin embargo, si el consumo es controlado, las tasas de conversión no son afectadas negativamente según se ha comprobado en algunos cultivos intensivos de camarón en el primer ciclo de este año (comunicación personal, Ing. Enrique Díaz).

Efecto del uso de harina de kelp sobre el nivel óptimo de proteína en el alimento

Como se mencionó anteriormente, el mayor consumo y crecimiento se obtuvo con bajos niveles de inclusión de 2 y 4% y con fórmulas experimentales conteniendo proteína/animal de manera predominante. Estos resultados se confirmaron en el estudio III, con alimentos peletizados comerciales con 25% de proteína y 3.2% de kelp, en donde se encontró que la harina de kelp tiene un efecto sinérgico con otros componentes atractantes presentes en el alimento como la harina de pescado. En este mismo estudio, se demostró que con la inclusión de harina de kelp, se pueden obtener crecimientos máximos con alimentos de bajo contenido proteico (25%) por ser altamente consumidos y de consistencia suave, en comparación con alimentos con alto contenido proteico (40%) menos consumidos, de consistencia dura, que además producen una elevada excreción amoniacal. Arnyakananda y Lawrence (1999) también demuestran este efecto de la ingestión estimulada, sobre la disminución del requerimiento óptimo de proteína al usar harina de *Artemia* como atractante.

Factores que afectan la capacidad aglutinante y texturizante de la harina de kelp

Con el estudio realizado en la planta de alimentos, se comprobó que el contenido y la calidad de la proteína en los alimentos, así como el nivel de inclusión del kelp y sus combinaciones, tienen efectos altamente significativos sobre la estabilidad, la capacidad de absorción de agua y la textura de los alimentos; presentándose una menor estabilidad, mientras mayor es el contenido de proteína, especialmente proteína vegetal y mientras mayor es el nivel de inclusión del kelp en el alimento. La excelente correlación encontrada entre el contenido de alginato del alimento y la capacidad de absorción de agua o la estabilidad del alimento en el agua, permite deducir que el efecto aglutinante y texturizante de la harina de kelp, está relacionado a su contenido de ficocoloides, especialmente a su contenido de alginato, por lo que el contenido de estos compuestos debe conocerse en cada lote.

Debido a que los factores: tamaño de partícula, fórmula y condiciones de proceso, también afectan la estabilidad de los alimentos, estos factores deben ser definidos en cada estudio.

CONCLUSIONES

- La inclusión de 2 a 4% de harina de kelp *Macrocystis pyrifera* en los alimentos experimentales y peletizados comerciales, definidos en este estudio, incrementa el consumo de alimento, mejora la tasa de crecimiento y la producción de biomasa del camarón blanco, hasta en un 100%.
- La inclusión de 2 a 4% de harina de kelp, no disminuye la digestibilidad de los alimentos, sino por el contrario la mejora.
- Al usar la harina de kelp como attractante y potencializador de “sabor”, es más factible reducir el nivel de proteína del alimento requerido para obtener un máximo crecimiento, lo que permite el desarrollo de alimentos amigables con el medio al disminuir los problemas de exceso de proteína y de excreción amoniacal.
- La harina de *Macrocystis pyrifera* al 3% de inclusión en alimentos peletizados (tamaño de partícula menor a 250 micras) en las condiciones y en las formulas comerciales evaluadas, funciona como un excelente aglutinante y texturizante, formando un pelet suave, esponjoso y elástico al absorber agua del medio.
- Debido a que la capacidad aglutinante y gelificante de la harina de kelp es significativamente afectada por la composición de la formula, el nivel de proteína, el tamaño de partícula de la mezcla de ingredientes y las condiciones de proceso, la forma y el nivel de uso de harina de kelp como aglutinante debe adecuarse a cada tipo de formula y de proceso, a través de pruebas de planta.
- Considerando que el efecto aglutinante y texturizante de la harina de kelp se debe principalmente al contenido de carbohidratos ficocoloides cuya concentración varía en función de diferentes factores (estación del año, lugar de distribución geográfica y especie); el conocimiento de su concentración en la harina de “algas kelp” es importante para eficientizar su uso.
- La combinación de harina de kelp con un aglutinante sintético tipo urea formaldehído, en alimentos con niveles altos de proteína o poco peletizables es una alternativa viable.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado y desarrollado a través de la vinculación de la Industria y el Programa Maricultura de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se agradece profundamente por su participación en el desarrollo de este trabajo a: Claudia López y Juan Pablo Hinrichsen de la compañía Tepual, Inual, Chile; Roberto Marcos de la compañía Productos de Pacífico, México y Alejandro Flores- Tom, Cándido Rodríguez y todo el personal de la compañía de alimentos PIA S.A., México.

REFERENCIAS

- Aranyakananda, P., Lawrence, A.L., 1999. Efectos de la tasa de ingestión sobre los requerimientos alimenticios en proteína y energía y la relación óptima de proteína-energía para *P. vannamei*. In: Mendoza-Alfaro R., Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie D. (Eds), Avances en Nutrición Acuícola II. Memorias del Segundo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, Monterrey, N.L., 7-10 Noviembre de 1994 (reimpresión). Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, México, ISBN # 968-7808-61-6, 157-170.
- Accorinti J. 1992. Tryptamine derivatives and other indolyl compounds in the brown algae *Macrocystis pyrifera* (L) C. Agardh. *Revue internationale D'oceanographie medicale*. 107-108, 51-58.
- Aquacop. 1978. Study on nutritional requirements and growth of *Penaeus merguensis* in tanks by means of purified and artificial diets. *Proceedings, World mariculture society, USA*. 9, 225-234.
- Association of official analytical chemists. 1990. Official methods of analysis. Edited by Kenneth Helrich. 15th Edition. Arlington Virginia, U.S.A. Vol 1: 684 p.p.
- Baba M., Snoeck R., Pauwels R., de Clercq E., 1988. Sulfated polysaccharides are potent and selective inhibitors of various enveloped viruses, included herpes simplex virus, cytomegalovirus, vesicular stomatitis virus, and human immunodeficiency virus. *Antimicrobe Agents Chemother* 32, 1742-1745.
- Behnke, K.C., 1985. Determining and expressing particle size. In *Feed Manufacturing Technology III*. McElhiney, R.R. Ed. American Feed Association Inc. 549-551.
- Carr, W.E.S., Derby, C.D., 1986. Chemically stimulated feeding behaviour in marine animals. *Journal of Chemical Ecology*, 12, 989-1001.
- Castro-González, M. I., Carrillo, S., Pérez-Gil, F., Manzano, R., Rosales, E., 1991. *Macrocystis pyrifera*: Potential resource for animal feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 25(1), 77-81.
- Castro-González, M. I., Carrillo-Domínguez, S., Pérez-Gil, F., 1994. Chemical composition of *Macrocystis pyrifera* (Giant Sargazo) collected in summer and winter and its possible use in animal feeding. *Ciencias Marinas*, 20(1), 33-40.
- Chevolot, L., Foucault, A., Chaubet, F., Kervarec, N., Siquin, C., Fisher, A. M., Boisson-Vidal, C., 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: Relationships with anticoagulant activity. *Carbohydrate-Research*. 319 (1-4), 154-165.
- Dalmo, R.A., Seljelid, R., 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminarian [β (1,3)-D-glucan] on Atlantic salmon, *Salmon salar* L., macrophages *in vitro*. *Journal of Fish Diseases*, 18, 175-185.
- Fleming, A.E., 1998. Growth, intake, feed conversion efficiency and chemosensory preference of the Australian abalone, *Haliotis rubra*. *Aquaculture*, 132, (3-4), 297-311.
- Fujiki, K., Matsuyama, H., Yano, T., 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 17(4), 349-355.
- Furusawa E., Furusawa S., 1990. Antitumor potential of low-dose chemotherapy manifested in combination with immunotherapy of Viva-natural, a dietary seaweed extract, on Lewis lung carcinoma. *Cancer Lett.* Apr 9;50(1), 71-8
- Furusawa, E., Furusawa, S., 1985. Anticancer activity of a natural product, viva-natural, extracted from *Undaria pinnatifida* on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma. *Oncology* 1985;42(6):364-9
- Gonzalez-Aviles-J-G; Shepherd-S-A. 1996. Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. *Aquaculture* 140(1-2), 169-176
- Guiry M.D. Seaweedsite, 2000. Nutritional Analysis of 10 commercially important sea vegetables on the western sea board of Ireland. www.seaweed.ie
- Guzmán del Proo, S.A., Casas-Valdez, M., Díaz-Carrillo, A., Díaz-López, Ma. L., Pineda-Barrera, J., Sánchez-Rodríguez, Ma. E., 1986. Diagnostico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. *Inv. Mar. CICIMAR*, 3(2), 1-63.
- Heinen, J.M., 1980. Chemoreception in decapod crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. *Proceedings of the world Mariculture Society*, 11, 319-334.

- Herber, SM., Van-Elswyk, ME., 1996. Dietary marine algae promotes efficient deposition of n-3 fatty acids for the production of enriched shell eggs. *Poult Sci.*, 75(12), 1501-1507.
- Hernández-Carmona-G. 1996. Frond elongation rates of *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. at Bahia Tortugas, Baja California Sur, Mexico. *Ciencias Marinas* 22(1): 57-72
- Houser, R.H., Akiyama, D.M., 1997. Feed formulation principles. D'Abramo, L.R., Conklin, D.E. and Akiyama D. Editors. In *Advances in World Aquaculture*, Vol. 6., 493-519.
- Jiménez-Escrig, A., Goñi-Cambrodon, I., 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr.*, 49(2), 114-120.
- Kloareg, B., Gall, E.A., Asensi, A., Billot, C., Crepineau, F., Moulin, P., Boyen, C., Valero, M., 1999. Molecular and cellular approaches of reproduction, biology and genetic improvement in laminarialean kelps. *World Aquaculture Magazine*, 30(1), 23-25.
- Larsen, B., 1975. Brown seaweeds: analysis of ash, fiber, iodine and mannitol. In: *Handbook of phycological Methods*, 181-188.
- Lawrence J.M., Olave, S., Otaiza, R., Lawrence, A. L., Bustos, E., 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. *Journal of the World Aquaculture Society* 28(1), 91-96
- Lee, D. S., Nam, T. J., Pyeun, J. H., 1998. Effect of low molecular alginates on cholesterol levels and fatty acid composition of serum and liver lipids in cholesterol-fed rats. *Journal-of-the-Korean-Fisheries-Society*. 31 (3), 399-408.
- Lind Owen T., 1979. *Handbook of common methods in lymnology*. The CV Mosby Company. United States of America. 2nd. Ed. 84-85 pp.
- Liu, J.N., Yoshida, Y., Wang, M.Q., Okai, Y., Yamashita, U., 1997. B cell stimulating activity of seaweed extracts. *Int J Immunopharmacol.*, 19(3), 135-142
- Marsden, I. D., Williams, P. M.J., 1996. Factors affecting the grazing rate of the New Zealand abalone *Haliotis iris* Martyn. *Journal of Shellfish Research* 15(2), 401-406
- Mauray, S., De-Raucourt, E., Chaubet, F., Maiga-Revel, O., Sternberg, C., Fischer, A. M., 1998. Comparative anticoagulant activity and influence on thrombin generation of dextran derivatives and of a fucoidan fraction. *Journal-of-Biomaterials-Science-Polymer-Edition*. 9 (4), 373-387.
- McHugh, 1987. Production and utilization of products from commercial seaweeds. FAO Fisheries technical paper 288. Food and agriculture organization of the United Nations, Rome, 1987. Chapter2.- Production, properties and uses of alginates.
- Millet, J., Collic-Jouault, S., Mauray, S., Theveniaux, J., Sternberg, C., Boisson-Vidal, C., Fischer, A. M., 1999. Antithrombotic and anticoagulant activities of a low molecular weight fucoidan by the subcutaneous route. *Thrombosis-and-Haemostasis*. 81 (3), 391-395.
- Nakagawa, H., 1997. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. *Biomed. Pharmacother.* , 51(8), 345-348.
- Nieto-López, M., Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., 1997. Implementación de un método para la determinación de óxido de cromo y proteína en micromuestras de alimento y heces de camarón. VI Simposium Internacional de Nutrición Animal. Facultad de Agronomía/UANL. Marín, N.L., Mex., 211-214.
- Nomura, T., Kikuchi, M., Kubodera, A., Kawakami, Y., 1997. Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Biochem Mol Biol Int.*, 42(2), 361-370.
- North W. J. 1987 . Biology of the *Macrocystis* resource in North America. In: Case studies of seven commercial seaweed resources. Doty M.S., Caddy J.F. and Santelices B. 1987. FAO Fisheries Technical paper-281. Food and agriculture organization of the United Nations Rome.
- Okai, Y., Ishizaka, S., Higashi-Okai, K., Yamashita, U., 1996. Detection of immunomodulating activities in a extract of Japanese edible seaweed, *Laminaria japonica* (Makonbu). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 72(4), 455-460.
- Okai, Y., Higashi-Okai, K., Ishizaka, S., Ohtani, K., Matsui-Yuasa, I., Yamashita, U., 1998. Possible immunomodulating activities in an extract of edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijiki). *J. of the Science of Food and Agriculture*. 76 (1), 56-62.
- Pak, N., Araya, H., 1996. Chilean edible sea macroalgae as sources of dietary fiber: effect on apparent digestibility of protein, fiber, and energy and fecal weight of rats. *Arch Latinoam. Nutr.*, 46(1), 42-46.
- Pedroza-Islas R., Medina, R.C., Acosta R. M., 2000. Uso de ficocoloides en la nebulización de microdietas para larvicultura marina. *Ciencia y Mar*. Vol.IV, Num.11. 27-34.
- Rehm, B. H. A., Valla, S., 1997. Bacterial alginates: Biosynthesis and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48(3), 281-288.
- Riaza, A., 1986. Comparación de métodos para estimar la digestibilidad en la lubina *Dicentrarchus labra*. These de DEA, UBO, Brest, Francia, 55 pp.

- Riou, D., Collic-Jouault, S., Pinczon-du-Sel, D., Bosch, S., Siavoshian, S., Le-Bert, V., Tomasoni, C., Siquin, C., Durand, P., Roussakis, C., 1996. Antitumor and antiproliferative effects of a fucan extracted from *Ascophyllum nodosum* against a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line. *Anticancer Res.*, 16(3A), 1213-1218.
- Rodríguez-Montesinos, Y.F., Hernández-Carmona, G., 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja California. *Ciencias Marinas*, 17, 3, 91-107.
- Shan, B.E., Yoshida, Y., Kuroda, E., Yamashita, U., 1999. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. *Int. J. Immunopharmacol.*, 21(1), 59-70.
- Sharp, G., 1987. *Ascophyllum nodosum* and its harvesting in Eastern Canada. In: Case studies of seven commercial seaweed resources. Doty M.S., Caddy J.F. and Santelices B. 1987. FAO Fisheries Technical paper-281. Food and agriculture organization of the United Nations Rome.
- Strand, A., Herstad, O., Liaaen-Jensen, S., 1998. Fucoxanthin metabolites in egg yolks of laying hens. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, 119(4), 963-974.
- Stuart, M.D., Brown, M.T., 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture*, 127 (4), 329-337.
- Tacon, A.G.J., 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados - Manual de capacitación. GCP/RLA/ITA, Proyecto Aquila II, Documento de Campo No4, FAO Brasilia, Brasil.
- Takahashi Y., Uehra K., Watanabe R., Okumura T., Yamashita T., Omura H., Kawano T., Kanemitsu A., Narasaka H., Susuki, N., Itami T., 1998. Efficacy of oral administration of fucoïdan, a sulphated polysaccharide, in controlling white spot syndrome in kuruma shrimp in Japan. In Flegel T.W. (ed) *Advances in shrimp biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- Teas, J., 1981. The consumption of seaweed as a protective factor in the etiology of breast cancer. *Med Hypotheses*, 7(5), 601-613.
- Tecator, 1983. Fat extraction on feeds with the Soxtec System HT - The influence of sample preparation and extraction media. Application note AN 67/83 (1983.06.13). Soxtec System HT Manual, Tecator AB, Sweden.
- Tecator, 1987. Determination of Kjeldahl Nitrogen Content with Kjeltex System 1026. Application note AN 86/87 (1987.02.18). Kjeltex 1026 Manual, Tecator AB, Sweden.
- Tejada, I., 1983. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Patronato de apoyo a la investigación y experimentación pecuaria en Mexico. 314-318. Citado en Castro González et. al. 1979
- Tierney, A.J., Atema, J., 1988. Behavioral responses of cryfish (*Orconectes virilis* and *Orconectes rusticus*) to chemical feeding stimulants. *Journal of Chemical ecology*, 14(1), 123-132.
- Vásquez, J.A., 1999. The effect of harvesting of brown seaweeds: a social, ecological and economical importance resource. *World Aquaculture Magazine*, 31(1), 19-22.
- Vaugelade P., Hoebler C., Bernard F., Guillon F., Lahaye M., Duee PH., Darcy-Vrillon, B., 2000. Non-starch polysaccharides extracted from seaweed can modulate intestinal absorption of glucose and insulin response in the pig. *Reprod. Nutr. Dev.* 40(1), 33-47.
- Viana, M. T., López, L. M., García-Esquivel, Z., Méndez E., 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. *Aquaculture*, 140(1-2), 87-98.
- Viana, M.T., Cervantes-Trujano, M., Solana-Sansores, R., 1994. Attraction and palatability activities in juvenile abalone (*Haliotis fulgens*): nine ingredients used in artificial diets. *Aquaculture*, 127(1), 19-28.
- Villarreal-Rivera, L., 1994. Content of alginates in ten species of phaeophyte algae on the Mexican coast. *Phyton (Buenos Aires)* 56(0): 109-111
- Vozzhinskaya-V-B; Kuzin, V.S., 1994. Productivity of Laminariales in the World Ocean. *Izvestiya Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya (Moscow)* 0(2): 308-312
- Xue C., Yu G., Hirta T., Terao J., Lin H., 1998. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(2), 206-209.
- Yamamoto, I., Maruyama, H., Takahashi, M., Komiyama, K., 1986. The effect of dietary or intraperitoneally injected seaweed preparations on the growth of sarcoma-180 cells subcutaneously implanted into mice. *Cancer Lett.*, 30(2), 125-131
- Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M., Nagata, T., 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63(3), 605-607.