

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS**



**EFFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN DIGESTIBILIDAD DE FUENTES
PROTEÍNICAS DE ORIGEN VEGETAL EN DIETAS PARA ROBALO (*Centropomus
viridis*)**

CARMEN CECILIA POLONÍA RIVERA

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención de: Maestría en Ciencias en el
Área de Ciencias Pesqueras.**

Xalisco, Nayarit. 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**EFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN DIGESTIBILIDAD DE FUENTES
PROTEÍNICAS DE ORIGEN VEGETAL EN DIETAS PARA ROBALO (*Centropomus
viridis*)**

CARMEN CECILIA POLONÍA RIVERA

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención de: Maestría en Ciencias en el
Área de Ciencias Pesqueras.**

Xalisco, Nayarit. Noviembre 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

CBAP/182/19.

Xalisco, Nayarit; 12 de noviembre de 2019.

M.C. GLORIA MACHAIN IBARRA
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
NIVEL SUPERIOR Y POSGRADO
P R E S E N T E.

Con base al oficio de fecha 28 de octubre del presente, enviado por los CC. Dr. Javier Marcial de Jesús Ruíz Velazco Arce, Dr. Francisco Javier Valdez González, Dr. Óscar Iram Zavala Leal, Dr. Miguel Jover Cerdá y Dra. Breidy Lizeth Cuevas Rodríguez, donde se indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha finalizado con los demás requisitos que establece nuestra institución, se autoriza a la **C. Carmen Cecilia Polonia Rivera**, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias en el Área de Ciencias Pesqueras.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Por lo Nuestro a lo Universal"

Dr. J. Diego García Paredes
Coordinador del Posgrado



C.c.p.- Expediente

&mefm

Unidad Académica de Agricultura. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. C.P. 63780. Xalisco,
Nayarit. Tels. (311)2-11-01-28 y 2-11-11-63 Posgrado (CRAP) 2-11-24 78

Bahía de Matanchén, San Blas; Nayarit, México. 28 de octubre de 2019

DR. J. DIEGO GARCÍA PAREDES
COORDINADOR DEL POSGRADO (CBAP)
P R E S E N T E

Los suscritos integrantes del Comité Tutorial para asesorar la Tesis titulada: **EFFECTO DEL PROCESO DE EXTRUSIÓN EN DIGESTIBILIDAD DE FUENTES PROTEÍNICAS DE ORIGEN VEGETAL EN DIETAS PARA ROBALO (*Centropomus viridis*)**, que presenta la **C. CARMEN CECILIA POLONÍA RIVERA** para obtener el Grado de Maestro en Ciencias con opción terminal en Ciencias Pesqueras, damos nuestra aprobación para que continúe con los trámites correspondientes para la obtención de su grado.

Sin otro asunto de tratar, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE



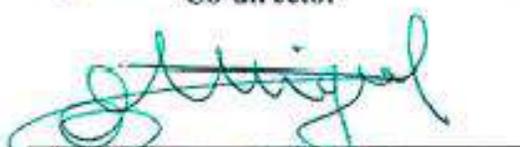
Dr. Javier Marcial de Jesús Ruiz Velazco Arce
Director



Dr. Francisco Javier Valdez González
Co-director



Dr. Óscar Iram Zavala Leal
Asesor



Dr. Miguel Jover Cerdá
Asesor



Dra. Breidy Lizeth Cuevas Rodriguez
Asesora

DEDICATORIA

Con mucho cariño dedico este maravilloso esfuerzo a mi amado de la gloria Papá Dios y su hermosa palabra que me sostiene y ayuda todo el tiempo. En los momentos difíciles me dice: 2

Corintios 12:9 Y me ha dicho: Bástate mi gracia; porque mi poder se perfecciona en la debilidad. Por tanto, de buena gana me gloriaré más bien en mis debilidades, para que repose sobre mí el poder de Cristo.

A mami, que me acompaña en cada paso de mi vida y aun en la distancia esperó más de dos años para volver a verme, espero con ansias el momento de abrazarla.

A Bernardo, mi compañero de vida quien me cuida a diario. Amo su espíritu descubridor y observador, Dios te continúe bendiciendo y guardando siempre.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sincero agradecimiento al equipo de Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias representado por el Dr. Juan Diego García Paredes.

Es de alta estima para mí todo el equipo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por creer en la ciencia como motor y apoyar a estudiantes como yo para que puedan hacer realidad sus sueños, de verdad muchas gracias y por supuesto a Mayra Pérez C., que siempre estás al pendiente, muchas gracias por todos su apoyo.

A la Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera (ENIP) por prestarme su infraestructura para el desarrollo la investigación. Al Dr. Francisco Valdez González por el tiempo que me dedicó. Al Dr. Javier Marcial de Jesús Ruiz Velazco Arce, a quien le debo en primer lugar que haya conocido este hermoso territorio y me ayudó a expandir mis límites, gracias por su apoyo. Al Dr. Óscar Iram Zavala Leal ya que gracias a sus esfuerzos fueron posibles los robalos y a sus comentarios en cada pre-seminario ha sido posible mejorar el documento. A la Dra. Breidy Cuevas Rodríguez quien se ha involucrado de forma activa en cada proceso que hemos asumido. Al Dr. Miguel Jover Cerdá que sé que desde la distancia está presto a apoyarme.

Agradezco mucho a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa por el apoyo con el proceso de extrusión y determinación de factores antinutricionales, gracias Dr. Luis Martín Sánchez Magaña, Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez y Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno.

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), encabezado por el Dr. Harvey y todo su equipo por todo su apoyo para determinar el óxido de cromo y proteínas por Kjeldahl.

A mi compañero de lucha más cercano Iván Elsías Díaz Vázquez, te agradezco mucho por tu excelente disposición, por facilitarme el camino y ayudarme cada vez que andaba en apuros. También agradezco a mis compañeras y compañeros de cohorte de maestría en el 2017 II por sus atención y experiencias vividas en mayor o menor proporción.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	XII
1. INTRODUCCIÓN	13
2. REVISIÓN DE LITERATURA	16
2.1. DISTRIBUCIÓN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL <i>CENTROPOMUS VIRIDIS</i>	16
2.2. PRINCIPALES ESTUDIOS CON EL <i>CENTROPOMUS</i>	17
2.2.1. CULTIVOS EXPERIMENTALES Y DIETAS SUMINISTRADAS	17
2.2.2. REQUERIMIENTOS NUTRIMENTALES DEL GÉNERO <i>CENTROPOMUS</i>	20
2.2.3. ESTUDIOS DE DIGESTIBILIDAD DE NUTRIMENTOS	22
2.3. FUENTES DE ORIGEN VEGETAL	23
2.3.1. FRUTO: SEMILLA DE YACA (<i>ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS</i> L.)	23
2.3.2. LEGUMINOSA: FRIJOL AZUFRAO (<i>PHASEOLUS VULGARIS</i>)	24
2.3.3. CEREAL: TRIGO (<i>TRITICUM AESTIVUM</i>)	25
2.4. ANTINUTRIENTES	25
2.4.1. ÁCIDO FÍTICO	26
2.4.2. INHIBIDORES DE TRIPSINA	26
2.4.3. LECTINAS	28
2.4.4. SAPONINAS	29
2.4.5. TANINOS	29
2.5. EXTRUSIÓN	30
3. JUSTIFICACIÓN	32
4. OBJETIVOS	32
4.1. GENERAL	32
4.2. ESPECÍFICOS	33
5. HIPÓTESIS	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS	34

6.1. ÁREA DE ESTUDIO	34
6.2. OBTENCIÓN Y ACLIMATACIÓN DE ORGANISMOS	34
6.3. TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES	35
6.4. ELABORACIÓN DE HARINAS	35
6.5. EXTRUSIÓN DE HARINAS	36
6.6. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL	38
6.6.1. PROTEÍNA CRUDA POR MÉTODO KJELDAHL	38
6.6.2. CONTENIDO DE HUMEDAD POR DESECACIÓN	39
6.6.3. CENZAS	40
6.6.4. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS POR MÉTODO SOXHLET (EXTRACTO ETÉREO).	41
6.6.5. FIBRA POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ÁCIDO-BÁSICA	41
6.6.6. EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO (E. L. N.) POR DIFERENCIA	42
6.7. DETERMINACIÓN DE FACTORES ANTINUTRICIONALES	42
6.7.1. ÁCIDO FÍTICO	43
6.7.2. SAPONINAS	43
6.7.3. TANINOS CONDENSADOS	44
6.7.4. LECTINAS	44
6.7.5. INHIBIDORES DE TRIPSINA	45
6.8. FORMULACIÓN DE DIETAS	45
6.9. ELABORACIÓN DE DIETAS	47
6.10. BIOENSAYO DE DIGESTIBILIDAD	47
6.11. COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD APARENTE	49
6.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
<u>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	<u>51</u>
7.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL	51
7.2. FACTORES ANTINUTRICIONALES	52
7.3. COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE MATERIA SECA Y PROTEÍNA DE LAS DIETAS	56
7.4. COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDAD APARENTE DE MATERIA SECA Y PROTEÍNA DE LOS INGREDIENTES EXPERIMENTALES	59
<u>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</u>	<u>64</u>
<u>LITERATURA CITADA</u>	<u>66</u>

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química proximal de los ingredientes utilizados en dietas para bioensayo de digestibilidad de <i>Centropomus viridis</i> .	45
Tabla 2. Formulación de dietas formuladas para experimento de digestibilidad de juveniles de <i>Centropomus viridis</i> , expresado en porcentaje (%).	46
Tabla 3. Análisis químico proximal de los ingredientes utilizados en este estudio.	51
Tabla 4. Antinutrientes evaluados en las fuentes vegetales utilizadas en las dietas del experimento.	53
Tabla 5. Determinación de lectinas en HF con pocillos de dilución, en UAH g ⁻¹ de muestra.	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica del <i>C. viridis</i> en el continente americano.	16
Figura 2. Características morfológicas del <i>Centropomus viridis</i>	17
Figura 3. Composición de aminoácidos y de dietas experimentales y proteína del músculo del <i>Centropomus undecimalis</i> silvestre adulto.	21
Figura 4. Vista satelital de la ENIP	34
Figura 5. Proceso de extrusión de harina de semillas de yaca.	37
Figura 6. Comportamiento de variables físico-químicas principales, temperatura y oxígeno disuelto.	48
Figura 7. Aglutinación de eritrocitos en HF por presencia de lectinas y HT y HTE sin lectinas.	55
Figura 8. CDAMS de la dieta del <i>Centropomus viridis</i> .	56
Figura 9. Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) en % de la proteína (P) de la dieta para el <i>Centropomus viridis</i> .	57
Figura 10. Coeficiente de digestibilidad aparente de materia seca del ingrediente experimental evaluado en <i>Centropomus viridis</i>	59
Figura 11. Coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína de los ingredientes de origen vegetal evaluados en el robalo <i>Centropomus viridis</i> ; expresado en %.	60

RESUMEN

Con el rápido crecimiento de la acuicultura han surgido importantes necesidades relacionadas con la alta demanda de proteína para el crecimiento de los organismos en cautiverio y es preocupante la sobreexplotación que se viene ejerciendo sobre los recursos pesqueros en su medio natural por lo que se han estudiado nuevas alternativas como los subproductos de fuentes proteínicas vegetales. En este estudio se evaluó el efecto que tuvo el proceso de extrusión sobre la digestibilidad de harinas de diferentes grupos representantes de fuentes vegetales, un fruto, semillas de yaca (*Artocarpus heterophyllus L.*), un cereal, trigo (*Triticum aestivum*) y una leguminosa, frijol (*Phaseolus vulgaris*), así como también su capacidad de reducción y/o eliminar factores antinutricionales presentes en los vegetales. Las harinas vegetales se suministraron en dietas formuladas para juveniles de robalo plateado (*Centropomus viridis*, Lockington, 1877) que a pesar de su importancia comercial es una especie poco estudiada, pero con gran potencial en cultivos acuícolas. Se aplicaron metodologías para evaluar los análisis químicos proximales y los antinutrientes, se formuló una dieta referencia que fue sustituida en un 30% por cada harina vegetal experimental con y sin extrusión, se alimentó *ad libitum* 3 veces al día, se colectaron las heces 2 horas después de cada alimentación; la materia fecal colectada se analizó a través de digestiones ácidas para calcular los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) de las dietas e ingredientes. Los resultados de los CDAMS de las dietas estuvo en el rango de 59.32 a 84.05% y los CDAP entre 77.87 a 97.46% y en los ingredientes estuvo CDAMSI entre 51.2 a 80.9%, el CDAPI estuvo entre 73.4 y 96.9%; las dietas con proceso de extrusión presentaron diferencia estadísticamente significativa, destacándose con los CDA más altos aunque también la Harina de Trigo (HT). Este estudio demostró que el *C. viridis* tiene la capacidad de ingerir, digerir y absorber fuentes de origen vegetal aplicando el proceso de extrusión, por lo que sería una interesante alternativa para formular dietas a un costo más bajo e incentivar el cultivo de esta especie.

Palabras claves: digestibilidad, extrusión, robalo, dietas, fuentes vegetales, proteína.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura desde sus inicios ha mantenido un crecimiento ascendente a nivel mundial y ha llegado a tal punto que para el año 2014 superó por primera vez la contribución de pescado que se da por capturas en el medio natural (FAO, 2016). Actualmente, existen cerca de 598 especies acuáticas que se cultivan en todo el mundo por lo que la producción de alimentos ha dejado de basarse principalmente en la captura de peces silvestres para comprender la cría de un número creciente de especies cultivadas, siendo el cultivo de peces el que representa el mayor volumen de producción con un 61.6%, (FAO, 2018).

Sin embargo, a medida que han aumentado las actividades acuícolas, también han surgido necesidades importantes que limitan la rentabilidad de esta actividad; entre estas se encuentra lo relacionado con la alimentación, que representa entre el 50% y 70% total de los costos de producción en acuicultura intensiva y superintensiva (Vandenberg et al., 2012). La fuente principal para suplir la necesidad proteínica de los peces cultivados proviene de la harina de pescado, ya que posee el balance adecuado de aminoácidos esenciales, alta digestibilidad y palatabilidad, no obstante, la industria ha sido muy criticada porque esta harina es obtenida de la explotación de los recursos pesqueros marinos (Zhou et al., 2016). Los peces requieren un porcentaje alto de proteína en su dieta debido a que éstos la usan para fines energéticos (Walton, 1987).

Por lo que se buscan fuentes alternativas que suplan la necesidad proteínica, a partir de harinas de origen vegetal que incrementen la factibilidad del cultivo y a su vez reduzcan los costos por alimentación.

Para efectos de este estudio se evaluaron diferentes fuentes de origen vegetal tales como semillas frutales, leguminosas y cereales en el robalo *Centropomus viridis*. Los peces carnívoros carecen de la acción protectora que brinda la degradación bacteriana, por lo que la incorporación dietética de fuentes de origen vegetal es más difícil de digerir, ocasionándoles

trastornos metabólicos y productivos. Sin embargo, existen procesos que pueden ser utilizados para reducir o eliminar estos factores, tales como calentamiento, aplicación de enzimas, remojo, germinación, irradiación, fermentación; métodos mecánicos como el descascarillado y el fresado, o incluso mediante otras técnicas como el procesamiento a alta presión, el calentamiento por microondas y la extrusión, (Nikmaram et al., 2017; Valdez-González et al., 2013). Particularmente, la extrusión es un proceso que permite un mayor aprovechamiento de las leguminosas, trabaja con temperaturas y tiempos de residencia relativamente cortos (Milán-Carrillo et al., 2002). Al tener un proceso de cocción corto se protege muy bien el sabor y los nutrimentos, además que permite la inactivación de enzimas al mismo tiempo de microorganismos y factores antinutricionales termolábiles como los inhibidores de tripsina y lectinas, razón por la cual es ampliamente utilizado en la industria alimenticia (Pastor-Cavada et al., 2011).

Por otro lado, un importante recurso pesquero como el *Cetropomus viridis* se caracteriza por ser un pez carnívoro marino-estuarino del género *Centropomus*. El género está compuesto por 12 especies que se distribuyen a lo largo del continente americano, 6 en el Océano Pacífico (*C. viridis*, *C. armatus*, *C. unionensis*, *C. medius*, *C. robalito* y *C. nigrescens*) en general desde Baja California Sur (México) hasta Perú y 6 en el Mar Caribe (*C. undecimalis*, *C. parallelus*, *C. ensiferus*, *C. mexicanus*, *C. pectinatus* y *C. poeyi*) extendiéndose desde la Florida (EE.UU.) hasta Brasil (Alvarez-Lajonchère y Tsuzuki, 2008; Muhlia-Melo et al., 1994).

Los peces del género *Centropomus* reúnen las características ideales para ser cultivados, puesto que son particularmente un valioso recurso de aguas tropicales y subtropicales, principalmente por poseer un alto valor comercial debido a la calidad, consistencia y sabor de su carne y por ello sostienen una parte importante de la pesquería ribereña de comunidades de pescadores de diferentes países del continente americano; además que son organismos eurihalinos, es decir, toleran un amplio rango de salinidad, también de temperatura lo que permite su adaptación a condiciones de agua dulce, se acostumbran al cautiverio y al alimento balanceado, (Alvarez-Lajonchère y Tsuzuki, 2008; Amador del Ángel et al., 1998; Contreras-

Sánchez et al., 2015; De Souza et al., 2011; Muhlia-Melo et al., 1994; Polonía-Rivera et al., 2017a; Zarza Meza et al., 2006). Su sistema reproductivo es hermafrodita protándrico, iniciando su ciclo de vida como macho y durante el primer y séptimo año, parte de la población hace la transición a hembra (Perera-García et al., 2008; Sánchez-Zamora et al., 2003) y en general estas características y comportamientos son similares entre las especies de la familia Centropomidae.

No obstante, para lograr el desarrollo del paquete tecnológico del cultivo del *C. viridis* se necesita llevar a cabo estudios e investigaciones sobre el alimento concentrado a suministrar, ya que se debe contar con una dieta que garantice un adecuado crecimiento y rendimiento de los animales, que cumpla con altos requerimientos de proteína para que satisfagan sus necesidades nutrimentales y energéticas (Álvarez-González et al., 2010; Polonía-Rivera et al., 2017b). Además, esta alimentación debe incluir otros aspectos importantes relacionados con la naturaleza comportamental del robalo (aceptación del alimento por parte de los peces) y el factor económico: costo de dieta; que deben ser seriamente considerados para asegurar un crecimiento eficiente y una rentabilidad óptima (Polonía-Rivera et al., 2016). Es por ello, que un análisis de este nivel implica estudios de la capacidad digestiva del organismo.

Por consiguiente, en este trabajo de investigación se propone evaluar la digestibilidad *in vivo* de dietas con ingredientes de origen vegetal: semilla de yaca, frijol, trigo, extrudidos y sin extrudir, en juveniles de robalo (*Centropomus viridis*), así como también comparar la reducción de factores antinutricionales en las harinas por el proceso de extrusión, estimando por diferencias estadísticas los tratamientos con los mejores resultados.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Distribución y clasificación taxonómica del *Centropomus viridis*

El *C. viridis* se encuentra distribuido a lo largo de la costa del Océano Pacífico Oriental Central: Baja California, México y el Golfo de California hasta Perú, incluyendo las Islas Galápagos (IUCN, 2007).



Figura 1. Distribución geográfica del *C. viridis* en el continente americano.

Fuente: fishbase.org

La especie *Centropomus viridis* como tal, se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (Nelson et al., 2004):

- Reino: Animalia
- Phylum: Chordata
- Subphylum: Vertebrata
- Superclase: Osteichthyes
- Clase: Actinopterygii
- Subclase: Neoterygii
- Infraclase: Teleostei
- Superorden: Acanthopterygii

- Orden: Perciformes
- Suborden: Percoidei
- Familia: Centropomidae
 - Subfamilia: Centropominae
 - Género: *Centropomus*
 - Especie: *Centropomus viridis*

Centropomus viridis es el nombre científico que recibe la especie objeto de este estudio, es conocido con los nombres vernáculos, en español: robalo plateado (IUCN, 2007), robalo holicudo (Labastida-Che et al., 2013), en inglés: white snook (Álvarez-Lajonchère y Tsuzuki, 2008) y en francés: crossié argenté (IUCN, 2007). Posee una apariencia alargada a oblonga y comprimido; perfil predorsal cóncavo por detrás de los ojos. Boca grande y protáctil, mandíbula inferior prominente; color en dorso y flancos plateados y gradualmente más claro hacia el vientre; la línea lateral es negra, bien definida y marcada. Mantiene un perfil predorsal recto o levemente cóncavo por detrás de los ojos (Fig. 2) (Bussing, 1995).

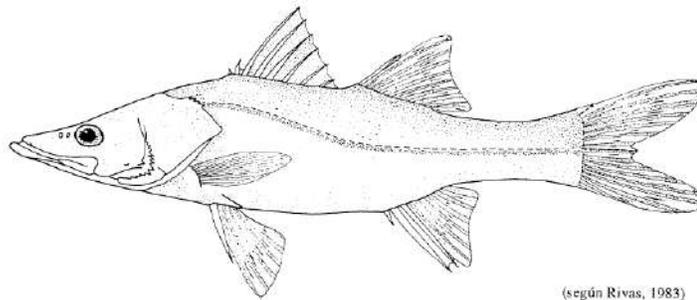


Figura 2. Características morfológicas del *Centropomus viridis*
Fuente: (Bussing, 1995)

2.2. Principales estudios con el *Centropomus*

2.2.1. Cultivos experimentales y dietas suministradas

El género *Centropomus* está conformado por peces de hábitos carnívoros, que tienen un importante rol ecológico como uno de los depredadores superiores en los estuarios, cuya dieta

está compuesta principalmente por peces y crustáceos (Blewett et al., 2006). No obstante, se están llevando a cabo estudios alrededor de las diferentes especies del género, con el objetivo de generar más conocimiento y lograr su cultivo en sistemas acuícolas, así como también poder reproducirlo en condiciones de laboratorio.

Almeida et al. (1999), evaluaron en agua marina alimento vivo comparado con pescado fresco en *C. undecimalis*, en los resultados se obtuvo preferencia por el alimento vivo y con éste los mejores resultados, pero se observó adaptación al pescado fresco.

En Buenaventura, Colombia, se llevó a cabo un estudio con *C. viridis* y *C. armatus* en jaulas flotantes en densidades de 5, 10, 20, 40 org m⁻³ durante 120 días, la densidad de 5 ind m⁻³ actuó como control o referencia y se alimentó con pescado fresco, mientras que en las demás se alimentó con alimento comercial para tilapia con 30% de proteína y suministrando el 5% de la biomasa, al final la mayor ganancia de peso fue inversamente proporcional a la densidad, la más baja obtuvo los valores más altos en ambas especies (Rubio et al., 1999).

Reyes et al. (2004), usaron pescado fresco, cabeza de camarón y calamar incorporados en dietas formuladas para progenitores de *C. undecimalis* mantenidos en agua salobre, alimentando a saciedad; encontraron diferencias significativas con las dietas que contenían calamar. De la misma manera Fraga et al. (2006), utilizaron harina de calamar, harina de pescado, picadillo de jaiba y jurel en reproductores y concluyeron que se mantuvo una tasa promedio de crecimiento diario de 0.82 g pez⁻¹ (incluyendo ambos sexos) que puede considerarse adecuada tratándose de animales adultos aptos para la maduración.

Reyes et al. (2006), evaluaron el crecimiento del robalo en ambiente salobre con peso promedio inicial de 280.1±56 g. La alimentación la establecieron al 3% de la biomasa con trozos de pescado de centropómidos, mugílidos, gérridos y machuelos (*Ophistonema oglinum*). En 150 días de cultivo se obtuvo un peso promedio de 761.9±89.1 g y un FCA de 2.88. Los resultados fueron comparados con el crecimiento de juveniles en tanques de fibra de vidrio en ambiente marino, con peso promedio inicial de 371.5±82.4 g y durante 162 días

alcanzaron un peso promedio final de 716.7 ± 56.1 g y FCA de 3.06. Los mayores resultados en ganancia de peso se obtuvieron con el cultivo en medio salobre (2.6 UPS), se señala la posibilidad de cultivar esta especie (en su fase de engorde) en agua dulce con buenos resultados.

Por otra parte, Zarza Meza et al. (2006), utilizaron alimento vivo para su cultivo experimental y evaluaron el crecimiento de dos especies de robalo, *C. undecimalis* y *C. parallelus*, encontrando que el *C. parallelus*, presentó una aceleración en el crecimiento en peso después de 9 meses de cultivo, mientras que el crecimiento en talla es similar para ambas.

Ortiz (2006) en Zamorano, Honduras evaluó en tanques con agua salobre el crecimiento de *C. viridis* alimentando con concentrado, alimento vivo y pescado fresco de tilapia, a razón del 10% de la biomasa, logró concluir que la mayor respuesta de crecimiento se dio con los robalos alimentados con peces vivos.

En el estudio de Tsuzuki y Berestina (2008), evaluaron diferentes alimentos comerciales uno para camarón y otro para peces marinos y obtuvieron un mayor crecimiento (ganancia de peso, tasa específica de crecimiento y factor de condición) con el alimento para camarón en robalo *C. parallelus*. Por otro lado, Barbosa et al. (2011) utilizaron una marca comercial para peces marinos y estimaron la tasa de alimentación del *C. parallelus* y llegaron a la conclusión de que con el 1.7 % de la biomasa es suficiente para sacar adelante un cultivo, señalando la importancia económica que tiene la optimización de su estudio.

Polonía-Rivera et al. (2017b), utilizaron pescado fresco como control, alimento balanceado comercial para trucha y para cobia, encontrando una mayor ganancia de peso con el alimento concentrado para cobia encontrando diferencias estadísticas significativas con respecto al tratamiento control, pescado fresco.

Se evaluaron los efectos de la frecuencia y tasa de alimentación de juveniles de *C. undecimalis*, la frecuencia y la tasa de alimentación influyeron directamente en las ganancias de longitud y peso, así como también la eficiencia de la alimentación, la tasa de crecimiento

específica y la tasa de conversión aparente de la alimentación. Para los juveniles de robalo que pesan entre 1 y 16 g, se recomienda ofrecer de cuatro a seis raciones diarias a una tasa de alimentación entre 3.31 y 1.86% por día, que debe disminuir según el aumento de tamaño del pez (Oliveira et al., 2019)

2.2.2. Requerimientos nutrimentales del género *Centropomus*

Se evaluó el efecto del nivel de proteína en la dieta de algunos alimentos comerciales y experimentales sobre el crecimiento y eficiencia de conversión de juveniles de *C. undecimalis* y se encontró que estos son eficientes convertidores del alimento artificial formulado, con índices de conversión cercana a 1.0 hasta la talla comercial, siempre y cuando la dieta contenga niveles proteínicos superiores al 40.4% (Gracia-López et al., 2003; Tucker, 1987). De Souza et al. (2011), evaluaron el crecimiento al formular seis dietas con diferentes niveles de proteína (37.5, 39.5, 41.6, 43.8, 47.3 e 49.0 %) y se obtuvo que a mayor nivel de proteína mayor ganancia de peso.

El nivel óptimo de proteína para cada especie/género depende del balance energético, la composición de aminoácidos, la digestibilidad de la proteína y de la cantidad de fuentes de energía no proteínica de la ración (Valdez-González et al., 2013).

En el estudio de Polonía-Rivera et al. (2017b), se usó una dieta para cobia con un nivel de proteína del 50% con la que se obtuvieron los mayores resultados de crecimiento y reportan que por su alto precio resulta inviable ya que encarecería el precio del producto final y no podría competir en el mercado nacional. En este estudio se utilizó también truchina con 45% de proteína y se obtuvieron las respuestas de crecimiento más bajas.

Silvão y Nunes (2017), evaluaron el efecto de la composición de aminoácidos de la dieta de proteínas alternativas a la harina de pescado en el desempeño del crecimiento del robalo (*Centropomus undecimalis*), utilizando harina de subproducto de salmón y concentrado de harina de soya, reemplazando en un 39 y 29% con harina de subproducto de aves de corral respectivamente, encontrando que la retención de proteína cruda varió de 36 a 38% para peces

alimentados con la dietas de referencia y la dieta de soya concentrada, pero excedió un 51% en peces alimentados con harina de aves de corral. Lo que indica una gran habilidad del robalo para ganar peso e incrementar la retención de nutrimentos cuando la proteína de la dieta es de origen animal. La proteína de la dieta de subproductos de aves de corral produjo un mayor balance en la composición de aminoácidos relativos al músculo de los peces, pero posiblemente excedió los requerimientos de la especie. A continuación se presenta la Fig. 3, los requerimientos de aminoácidos esenciales y no esenciales del robalo, obtenida en el mencionado estudio.

Table 2 - Analyzed amino acid composition (g 16 g N⁻¹) of experimental diets and muscle protein of a wild adult of the common snook, *C. undecimalis*

Amino acid	Composition (g 16 g N ⁻¹ , dry matter basis)			Muscle
	Experimental diet			
	Basal	Poultry	SPC	
Essential				
Arginine	5.97	6.09	6.05	5.59
Histidine	2.06	1.98	2.16	2.43
Isoleucine	3.73	3.89	3.79	4.35
Leucine	6.78	7.04	6.98	8.56
Lysine	12.78	12.17	13.34	12.41
Methionine	2.92	2.74	2.59	5.81
Phenylalanine	4.05	4.17	4.31	4.30
Threonine	3.88	3.65	3.41	4.66
Tryptophan	0.43	0.42	0.47	0.79
Valine	4.59	4.84	4.58	4.98
Nonessential				
Alanine	5.98	5.85	5.55	6.15
Aspartate	8.36	7.67	8.77	9.85
Cystine	0.95	0.94	0.75	3.35
Glycine	8.54	8.37	7.83	4.83
Glutamate	13.37	13.53	14.30	15.61
Proline	5.35	5.80	5.27	3.60
Serine	3.75	3.68	3.23	4.15
Tyrosine	2.80	2.70	2.63	3.70

SPC - soy protein concentrate.

Figura 3. Composición de aminoácidos y de dietas experimentales y proteína del músculo del *Centropomus undecimalis* silvestre adulto. Tomada del estudio de Silvão y Nunes, (2017)

2.2.3. Estudios de digestibilidad de nutrimentos

Anteriormente las formas de evaluar un alimento estaban determinadas por el crecimiento de los organismos, sin embargo se ha logrado un tipo de investigación enfocada hacia la digestibilidad con técnicas *in vivo* e *in vitro*, que permite el aprovechamiento de una gama de posibles ingredientes susceptibles a ser incorporados en dietas formuladas a un costo mínimo y con la seguridad que producirá el crecimiento esperado (Hernández et al., 2008).

Recientemente los estudios se han enfocado en el uso de fuentes alternas de proteína en dietas para peces, reemplazando parcialmente la harina de pescado que es el insumo más costoso, así, Álvarez-González et al. (2010), evaluaron la fisiología digestiva de juveniles y larvas de robalo *C. undecimalis*, utilizando técnicas bioquímicas y moleculares. Evaluaron cambios de las enzimas digestivas (proteasas, lipasas, amilasas y fosfatasas) y su expresión molecular (tripsina, lipasa y ubiquitina), la caracterización de proteasas por medio de técnicas bioquímicas y electroforéticas, así como la digestibilidad *in vitro* de ingredientes de origen animal y alimentos artificiales; encontrando que para las proteasas alcalinas el óptimo de pH y temperatura fueron de 7 a 11 y 65 °C respectivamente, el pH óptimo de proteasas ácidas se encuentra en 2 con alta estabilidad entre 2 y 8, mientras que la temperatura óptima es de 75 °C con altas estabilidades de 25 a 55 °C, la cual fue inhibida en 86% con pepstatín A.

En la investigación de Shimada-Borges et al. (2010), con *C. parallelus*, evaluaron la capacidad de absorción de lípidos y proteínas, encontrando que los lípidos son intensamente absorbidos en el epitelio y en menor proporción en el intestino y recto y que las proteínas sólo son absorbidas en el recto.

Lemus et al. (2017), evaluaron la digestibilidad *in vitro* de doce tratamientos en juveniles de robalo *C. undecimalis*; siete de origen vegetal: harina de soya, maíz, gluten de trigo, canola, proteína de soya concentrada, soya y canola con fitasas pretratadas para degradar antinutrientes y cinco de origen animal: harina de subproductos de aves de corral, pollo, suero de leche seca, pota (mezcla de calamar gigantes con concentrado soluble de proteína de peces)

y protiblend (mezcla camarón entero y carne animal terrestre); también se valoró la digestibilidad *in vivo* y se usó como marcador inerte zeolita. En la digestibilidad *in vitro* se evaluó el grado de hidrólisis de ingredientes de origen vegetal y animal; el mayor grado de acidez se produjo con Protiblend®, harina de pollo y harina de subproductos de aves de corral, la condición alcalina con Protiblend en los ciegos pilóricos e intestinos, el gluten de maíz en los ciegos e intestino y reflejaron los valores más altos de grado de hidrólisis. La digestibilidad *in vitro* demostró que el Protiblend era el más alto (85.3%), seguido de harina de subproductos (51.4%), harina de canola con fitasa (47.6%), gluten de maíz (45.1%) y harina de pollo (46.5%). En el experimento *in vivo* se encontraron diferencias, el coeficiente de digestibilidad aparente estuvo en el rango de 89.8 a 92.9% para proteínas. No encontraron diferencias en la digestibilidad *in vivo* del CDAP con la dieta con gluten de trigo ($89.9 \pm 1.7\%$).

2.3. Fuentes de origen vegetal

2.3.1. Fruto: semilla de yaca (*Artocarpus heterophyllus* L.)

La yaca (*A. heterophyllus* L), es un fruto exótico originario de países asiáticos. En Nayarit, México, se produce más del 88.8% de la yaca de todo el país, para lo cual se utilizan 1200 ha de cultivo, esto lo constituye como el productor principal de México con 18.611 ton anuales y el 40 % no se exporta. Valor de venta anual 7.346 millones USD, (SIAP, 2017).

La semillas de *A. heterophyllus* L, puede ser utilizada como fuente alternativa de proteína en la elaboración de alimentos para peces, por poseer alto contenido proteínico de 22.4 %, una semilla fisiológicamente madura puede medir de 2 a 4 cm, tiene un 62.7% de humedad, 3.6% de cenizas, 0.81 % de lípidos y 8.9 % de fibra cruda. El peso de un fruto oscila entre 2 y 36 kg, se han reportado frutos de hasta 90 cm; pueden contener de 100 a 500 semillas, que representa el 8 – 15 % del peso de la fruta, (Bobbio et al., 1978; Madrigal-Aldana et al., 2011).

Las semillas de yaca resultan ser un subproducto desechado en grandes cantidades por los comercializadores de esta fruta en el poblado El Llano, San Blas, Nayarit y sus alrededores, por lo que darles un uso como ingrediente en dietas para peces puede ser una solución viable.

2.3.2. Leguminosa: frijol azufrado (*Phaseolus vulgaris*)

El frijol azufrado (*Phaseolus vulgaris*) es una semilla de una planta herbácea anual (germina, florece y muere en un año), es trepadora y de gran consumo en países de habla hispana. El frijol es de gran importancia en la dieta mexicana, proporciona del 20 al 40% de proteína (depende de la especie), vitaminas del complejo B y minerales como hierro y calcio. El almidón del frijol es un aporte de energía y de estructuras carbonadas para síntesis posteriores en el metabolismo (Iniestra-González et al., 2005).

Sus principales antinutrientes son: Inhibidores de proteasas, fitohemaglutininas, cianógenos, ácido fítico, saponinas, antivitaminas, oligosacáridos y taninos (Iniestra-González et al., 2005; Valdez-González et al., 2013).

En diversos estudios se reporta la sustitución de la harina de pescado por fuentes proteínicas procedentes de las leguminosas tal sustitución fue evaluada en diferentes porcentajes de inclusión en la dieta acorde con el tipo de fuente de origen vegetal y su nivel de proteína, digestibilidad y balance de aminoácidos (Drew et al., 2007).

A nivel mundial, se destacan 7 países en los que se concentra el 63% de la producción de frijol en 2014, México ocupa el quinto lugar con un aporte del 5.1%, quedando por encima de China y Tanzania. El frijol en México ocupa el cuarto lugar en importancia por la superficie que cultivada. Durante el año agrícola 2015 se cosecharon 1.56 millones de hectáreas de frijol; así, la producción nacional se ubicó en 969.1 mil ton, siendo Nayarit, Zacatecas y Sinaloa los estados de mayor producción (FIRA, 2016). Para el 2016, según reportes de la SAGARPA, (2017) el frijol tuvo un valor de venta de \$9.5 millones pesos.

2.3.3. Cereal: trigo (*Triticum aestivum*)

Los cereales cultivados y silvestres que se les denominan trigo y pertenecen al género *Triticum*, son plantas anuales de la familia de las gramíneas. A nivel mundial es uno de los más cultivados junto con el maíz y el arroz. En 2013 la producción mundial fue de 713 millones de toneladas, ocupando el tercer lugar después del maíz y el arroz y es el más ampliamente consumido por la población occidental, más del 90% del trigo producido se le conoce como trigo harinero, perteneciente a la especie *Triticum aestivum*, que se utilizó en este estudio en forma de harina comercial. La producción de trigo en México incrementó en un 14.6% pasando de 3.352.000 ton en 2013 a 3.841.000 ton en 2016, cultivadas en 728.900 ha; generando un valor de primera venta de \$14.167 millones de pesos mexicanos, (SAGARPA, 2017).

Por otro lado, según reporta Grela, (1996) la composición química del trigo posee 14.3% de proteína cruda, 2.04% de cenizas cruda, extracto etéreo de 2.23%, 2.75% de fibra y 78,66% de extracto libre de nitrógeno; sus principales antinutrientes son alquilresorcinoles (58.7%), taninos (0.0348%) e inhibidores de tripsina (0.0263%); así como también 62.08% de almidón.

Los cereales y las leguminosas como el trigo y frijol, respectivamente, son alimentos completos; contienen simultáneamente carbohidratos, proteínas, lípidos, y algunos micronutrientes como vitaminas y minerales, sin embargo, las leguminosas presentan en su composición factores antinutricionales (Elizalde et al., 2009).

2.4. Antinutrientes

Los antinutrientes son compuestos naturales o sintéticos que interfieren con la digestión y absorción de los nutrientes, es frecuente encontrarlos en fuentes de origen vegetal; el término antinutrientes se utiliza para calificar a aquellos compuestos que afectan el valor nutricional de algunos alimentos, especialmente semillas, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrientes que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal

(proteínas y minerales); desde el punto de vista bioquímico estos factores son de naturaleza variada y pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables. Son sustancias naturales no fibrosas, generadas por el metabolismo secundario de las plantas como mecanismo de defensa a situaciones estresantes o contra el ataque de mohos, bacterias, insectos y aves (Belmar y Nava, 2000; Elizalde et al., 2009; Muzquiz, 2006).

En este estudio se llevó a cabo el análisis de los siguientes antinutrientes:

2.4.1. Ácido Fítico

El ácido fítico, mioinositol hexafosfato (IP6) es un compuesto ubicuo (que va del 0,4 al 6,4% en peso) naturalmente presente en cereales, granos, semillas oleaginosas y nueces. En las monocotiledóneas de arroz y trigo, el fitato se encuentra en la capa de aleurona o salvado y por lo tanto, podría reducirse fácilmente durante el proceso de molienda al eliminar la capa externa, incluidas las capas de salvado de las semillas (Nikmaram et al., 2017). Sus sales derivadas constituyen la mayor reserva de fósforo y mioinositol de las semillas de cereales y leguminosas; desde el punto de vista nutricional, el interés del ácido fítico se debe principalmente a su capacidad de formar complejos con minerales esenciales (Cu, Zn, Fe, K, Mg y Ca), (Wyatt y Triana, 1994), lo que disminuye la absorción intestinal y la biodisponibilidad de estos minerales para el hombre y los animales monogástricos; debido a que estos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar los minerales de la estructura del fitato. Además, los fitatos interaccionan con residuos básicos de proteínas formando complejos, como proteína-fitato y proteína-fitato-mineral, por lo que se paralizan muchas reacciones enzimáticas a nivel digestivo (Duffus y Slaughter, 1985; Mazza, 2000).

2.4.2. Inhibidores de Tripsina

Los inhibidores de proteasas son responsables de frenar o incluso inhibir la acción catalítica de la enzima. Los inhibidores de las enzimas digestivas (proteasa) se han identificado en la

mayoría de los cereales, pero sus niveles son relativamente bajos en comparación con las leguminosas (Nikmaram et al., 2017).

Estos factores se pueden definir como compuestos termolábiles de naturaleza proteica, que alteran la digestión de las proteínas, inhibiendo la acción de las enzimas digestivas que se enfocan hacia la hidrólisis de las proteínas de la dieta; los más conocidos son los que reaccionan con proteasas de serina, como la tripsina y la quimotripsina (Elizalde et al., 2009).

Los inhibidores de proteasas son los más conocidos; encontrados principalmente en semillas crudas de leguminosas, (Duffus y Slaughter, 1985; Muzquiz, 2006). Estas enzimas contienen relativamente grandes cantidades de aminoácidos azufrados, incluyendo a la metionina. De esta forma, puesto que la metionina es el aminoácido limitante en algunas leguminosas como la soya, el efecto del inhibidor es incrementado por la pérdida de aminoácidos esenciales endógenos, ya que se encuentran en poca cantidad (Duffus y Slaughter, 1985; Kuo, 2004; Oloyo, 2002).

El efecto más importante de los inhibidores de proteasas es la inhibición del crecimiento, producida principalmente por la inactivación de la tripsina y la quimotripsina, debido a la formación de complejos estables e inactivos; esto origina una hidrólisis incompleta de las cadenas peptídicas por parte de estas enzimas digestivas y por consiguiente, una disminución en la digestibilidad de la proteína (Muzquiz, 2006). Asimismo, se ocasiona un aumento en la secreción pancreática de enzimas digestivas como tripsina, elastasa, amilasa y quimotripsina; todas éstas ricas en aminoácidos, principalmente azufrados como la cisteína y la metionina dando como resultado la pérdida de proteína endógena rica en aminoácidos azufrados esenciales, además de la subutilización de la proteína dietaria (Belmar, 2001). Gran parte de la actividad de este inhibidor puede eliminarse utilizando diversos tratamientos como: procesos térmicos, la germinación y la fermentación; estos tratamientos desnaturalizan las proteínas mejorando su digestibilidad (Belmar y Nava, 2000). Sin embargo, un tratamiento por calor excesivo puede resultar en proteínas dañadas, disminución de los aminoácidos disponibles y una digestibilidad más baja de la proteína, lo que representa pérdida de calidad y riesgo en

productos comerciales procesados (Van den Hout et al., 1998). Sin embargo, se ha demostrado, que la efectividad de los tratamientos por calor dependen del pH, la temperatura, el tiempo de calentamiento, las condiciones de humedad, el tamaño de partícula y el tipo de semillas; por tanto, es recomendable aplicar métodos combinados para minimizar el daño en la calidad nutricional del alimento y promover una mayor inactivación (Belmar, 2001; Elizalde et al., 2009; Muzquiz, 2006).

2.4.3. Lectinas

Este factor antinutricional pertenece a un grupo variado de proteínas no inmunes; conocido como hemaglutinas, ampliamente distribuidas en la naturaleza encontrándose en plantas, animales y organismos inferiores (Hernández, 2009). Se caracterizan por ligar carbohidratos o glicoconjugados con alta especificidad, uniéndose de manera reversible sin alterar su estructura covalente (Rini, 1995). Su efecto *in vitro* consiste en combinarse con las glicoproteínas de las membranas de los glóbulos rojos las cuales aglutinan o coagulan (de ahí el nombre de fitohemaglutinas). Su acción *in vivo* radica en su alta especificidad para reconocer carbohidratos (Hernández, 2009; Lis y Sharon, 1998).

Su principal efecto está relacionado con el hecho de que se adhieren a los carbohidratos sobre la superficie del intestino delgado y causan daños en la pared intestinal, afectando los procesos de absorción y transporte de nutrimentos a través de ella (Duffus y Slaughter, 1985; Salgado y Valadez, 2002).

Como consecuencia a la acción de las lectinas el intestino se vuelve más permeable, de ahí que las lectinas y otros péptidos puedan ser absorbidos y tengan efectos perjudiciales sobre el sistema inmunológico y sobre algunos órganos, la unión de las lectinas y la mucosa intestinal produce un cambio en la actividad de las enzimas digestivas, también producen una hipersecreción de proteína endógena debido a la descamación de células dañadas, un aumento en la producción de mucinas y una pérdida de proteínas del plasma en el lumen intestinal; además, existe la posibilidad que, debido al daño que infligen las lectinas a la mucosa

intestinal, algunas bacterias puedan encontrar una ruta de ingreso al sistema circulatorio y de esta forma infecten órganos internos; sin embargo el factor antitripsico tiene un mayor efecto de deterioro que las lectinas cuando se evalúan por separado en dietas sobre la ganancia de peso y eficiencia alimenticia, además las lectinas son más susceptibles a la desnaturalización por calor y el procesado que los inhibidores de la tripsina (Belmar, 2001; Belmar y Nava, 2000; Elizalde et al., 2009; Salgado y Valadez, 2002).

2.4.4. Saponinas

Las saponinas son glucósidos anfipáticos estructuralmente. Consisten en agliconas no polares junto con uno o más restos de monosacáridos (Nikmaram et al., 2017). Poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos; son glucósidos que determinan en gran parte el sabor amargo de algunas semillas como la soya cruda y la quinua sin desaponificar; las saponinas presentan poca actividad antinutricional, (Buitrago, 1992; Lacaille-Dubois y Wagner, 1996). Las saponinas poseen como propiedades comunes: la alta capacidad de formación de espumas en soluciones acuosas, su actividad hemolítica, ser tóxicas para los peces y la formación de complejos con el colesterol (Lacaille-Dubois y Wagner, 1996).

2.4.5. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos solubles en agua (peso molecular de más de 500 Da), que se producen ampliamente en los tejidos vasculares de la hoja, brote, semilla, raíz y tallo. Habitualmente se dividen en hidrolizables y condensados. Estos son capaces de unirse a enzimas, proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas, y formar complejos con el hierro del alimento, dificultando la digestión de los nutrimentos (Calda y Blair, 2004; De Lange et al., 2000; Smithard, 2002). Aunque hay diferencias químicas entre ellos, todos son compuestos fenólicos y pueden precipitar la proteína. La capacidad de ligar proteínas por los taninos, se ha considerado como un elemento importante para predecir sus efectos en sistemas biológicos (Carulla y Pabón, 2004; Oloyo, 2002).

2.5. Extrusión

La tecnología de cocción de extrusión para alimentos y piensos surgió de un proceso desarrollado por Adams Company en el 1940 para fabricar bocadillos de sémola de maíz, se derivan de las anteriores tecnologías de extrusión utilizadas para formar y extrudir carnes y pastas de embutidos (Guy, 2016).

La extrusión es un procesamiento de tiempo corto a alta temperatura que combina varios procesos que incluyen transferencia de calor, masa, mezcla, corte, reducción del tamaño de partículas, fusión, texturización, caramelización y conformación. La extrusión de alimentos es un proceso termomecánico multifuncional y combinado. En general, la extrusión implica cambios fisicoquímicos en la materia prima, incluida la unión, escisión, pérdida de conformación nativa, recombinación de fragmentos y degradación térmica; se considera un método eficaz en términos de retención de nutrimentos, ya que los inhibidores del crecimiento (por ejemplo, derivados del ácido cinámico) y los microorganismos contaminantes se destruyen o reducen de manera más efectiva, (Nikmaram et al., 2017; Riaz, 2000). Las ventajas de la extrusión incluyen la destrucción de factores antinutricionales, gelatinización del almidón, aumento de la fibra dietética soluble y disminución de la oxidación de los lípidos (Nikmaram et al., 2015).

La extrusión es un proceso que permite un mayor aprovechamiento de leguminosas y cereales ya que trabaja con temperaturas entre 150 a 200 °C y tiempos de residencia relativamente cortos (Milán-Carrillo et al., 2002). Pasa por un proceso de cocción corto, se protege muy bien el sabor y los nutrimentos esenciales además que permite la inactivación de enzimas, microorganismos y factores antinutricionales termolábiles como los inhibidores de tripsina y lectinas, por lo cual es ampliamente utilizado en la industria alimenticia (Pastor-Cavada et al., 2011).

La extrusión es única entre los procesos térmicos, ya que el material (alimentos almidonados o proteicos cortados, humedecidos) se procesa en una masa viscosa, similar a la de un plástico y

se cocina antes de ser forzado a través de un troquel. Algunos resultados de la extrusión son la gelatinización del almidón, desnaturalización de la proteína, la inactivación de enzimas y factores antinutricionales, la reducción de los recuentos microbianos y la mejora de la digestibilidad y el valor biológico de las proteínas, (Martín-Cabrejas et al., 1999; Milán-Carrillo et al., 2002).

En el estudio de Cheng y Hardy, (2003), se evaluó los efectos del proceso de extrusión en los CDA de materia seca, proteína cruda, grasa cruda, energía y minerales en la harina de soja (SBM), cebada, harina de gluten de maíz y trigo integral, utilizando trucha arco iris. Los ingredientes no extrudidos se utilizaron crudos, es decir, no fueron preacondicionados. Se utilizó óxido de itrio como marcador inerte. Los resultados mostraron que el proceso de extrusión mejoró significativamente los CDA de materia seca, grasa bruta y energía bruta, y redujo los CDA de proteína bruta, fósforo, cobre, hierro y zinc. Los resultados también mostraron que los efectos de la extrusión en el procesamiento de la composición química y los CDA de los nutrimentos dependen de los ingredientes. Se recomienda que los minerales traza, como el cobre, el hierro y el zinc, se complementen con un 10-20% adicional cuando las dietas de truchas arco iris se extruden debido a su reducida biodisponibilidad en los ingredientes de alimentos a base de harinas vegetales.

La efectividad del proceso de extrusión en la reducción óptima de factores antinutricionales depende de la intensidad de los parámetros del proceso, como la velocidad del tornillo, la temperatura del barril, el contenido de humedad de la alimentación y la presión de extrusión. Además de causar una reducción de los factores antinutricionales, el tornillo de un extrusor influye en el grado de cocción, la gelatinización y la dextrinización del almidón y la desnaturalización de proteínas (Nikmaram et al., 2017, 2015; Pastor-Cavada et al., 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

El rápido crecimiento de la acuicultura en la actualidad, proporciona la mitad de todo el pescado destinado al consumo humano. Por lo que la acuicultura se sitúa como el principal sector que suministra alimento de origen animal.

Sin embargo, a medida que han aumentado las actividades acuícolas, también han surgido necesidades importantes que limitan la rentabilidad de dicho sector; entre estas se encuentra todo lo relativo a la dieta, lo cual puede representar entre el 50 y 70 % total de los costos de producción en acuicultura intensiva y superintensiva.

Es de suma importancia proponer y evaluar nuevas alternativas en la producción de alimento balanceado, por lo que se han realizado numerosas investigaciones en donde se utilizan fuentes proteínicas de origen vegetal para sustituir parcial o totalmente a la harina de pescado aplicando procesos para alcanzar una mejor aprovechamiento, como la extrusión. Es por ello que en este trabajo se pretende generar conocimiento sobre la digestibilidad de robalo *C. viridis*, al sustituir parcialmente la dieta con fuentes de origen vegetal de forma integral y extrudida, ya que esta es una especie sostiene parte de la pesca de comunidades ribereñas, ha sido poco estudiada y con gran potencial para los cultivos acuícolas.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar el efecto del proceso de extrusión sobre la digestibilidad *in vivo* y antinutrientes de harinas de origen vegetal en dietas para robalo, *Centropomus viridis*.

4.2. Específicos

1. Evaluar la composición químico proximal de los tratamientos obtenidos de harinas de trigo, frijol y semillas de yaca.
2. Determinar el contenido de factores antinutricionales de las fuentes de origen vegetal extrudidas y sin extrudir.
3. Determinar los coeficientes de digestibilidad aparente de las dietas, utilizando óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador inerte.
4. Determinar los coeficientes de digestibilidad aparente de los ingredientes de origen vegetal.

5. HIPÓTESIS

La aplicación del proceso de extrusión a fuentes proteínicas de origen vegetal en dietas para robalo *C. viridis*, permitirá obtener un incremento en los coeficientes de digestibilidad aparente con respecto a los tratamientos sin extrudir.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Área de estudio

El proyecto de investigación se llevó a cabo en la Unidad Académica Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera (ENIP) de la Universidad Autónoma de Nayarit, en las instalaciones de la Granja Acuícola y el Laboratorio de Nutrición (Fig. 4), ubicada en la Bahía de Matanchén, San Blas, Nayarit, México en las coordenadas geográficas 21°30'00.01" de Latitud Norte y 105°11'54.19" de Longitud Oeste.

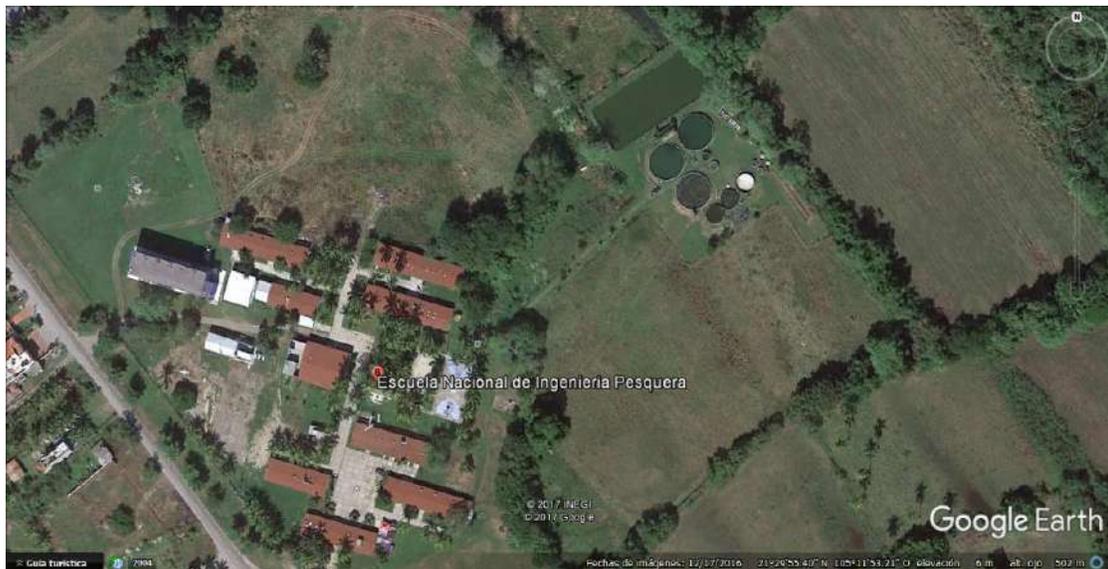


Figura 4. Vista satelital de la ENIP

Fuente: Google Earth

6.2. Obtención y aclimatación de organismos

Se capturó un lote de 311 robalos (*Centropomus viridis*) de peso inicial de 2.18 ± 0.83 g y talla de 6.79 ± 0.53 cm, en el reservorio de la Granja La Gloria de YHVH por medio de una red de arrastre hecha con malla antiáfido. Se aclimataron de agua marina a agua dulce en un tanque

con geomembrana de 58.3 m³, se realizó un recambio de 10% de agua dulce diariamente, hasta lograr una salinidad permanente de 0.3 UPS.

En este sistema se realizó la adaptación al alimento artificial, inicialmente se suministró alimento vivo, gupi (*Poecillidae* spp.) y moya (*Macrobrachium tenellum*) y se fue reemplazando paulatinamente por alimento inerte hasta que se consiguió el consumo permanente.

6.3. Tratamientos experimentales

Para efectos de este estudio se evaluaron tres fuentes de origen vegetal representados por semilla de fruta, leguminosa y cereal, tanto extrudidas como sin extrudir. La obtención de estos insumos, se describe a continuación.

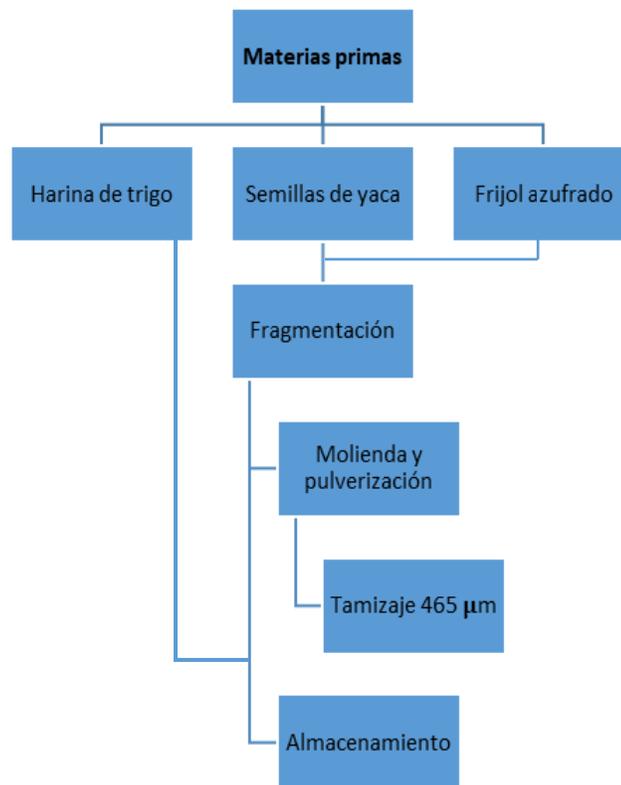
- Fruta, (semilla de yaca): las semillas de yaca resultan ser un subproducto desechado en gran proporción por los comercializadores de la pulpa de esta fruta en el poblado el Llano, Nayarit y sus alrededores, por lo que usarla como ingrediente en dietas para peces puede ser una solución para darle valor agregado.

- Leguminosa: el frijol azufrado se obtuvo de bodegas, dándole preferencia a aquellos granos que eran desechados por estar quebrados o defectuosos y que no cumplían con los estándares de calidad para exportación.

Cereal: el trigo se adquirió en su presentación comercial en el mercado, a un bajo precio.

6.4. Elaboración de harinas

Para obtener las harinas se llevó a cabo el siguiente proceso:



Las semillas de yaca fueron deshidratadas y fragmentadas primero con un molino manual, el frijol azufrado y las semillas de yaca fragmentadas fueron molidas y pulverizadas con un molino eléctrico (1 Hp marca del Rey, Modelo 18-58) y finalmente fueron tamizadas a 465 μm . En el caso del trigo se utilizó una harina comercial marca Del Valle®. Cada grupo de harinas se subdividió en dos grupos para obtener las harinas extrudidas. Todos los tratamientos (harina de semilla de yaca HSY, harina de semilla de yaca extrudida HSYE, harina de frijol HF, harina de frijol extrudida HFE, harina de trigo HT y harina de trigo extrudida HTE) se almacenaron en bolsas ziploc a 4 °C, hasta su uso.

6.5. Extrusión de harinas

El proceso de extrusión de las harinas de origen vegetal (semillas de yaca, frijol azufrado y trigo) se llevó a cabo a través de una estancia académica en la Facultad de Ciencias Biológicas de Culiacán de la Universidad Autónoma de Sinaloa con un extrusor de tornillo simple modelo

20DN (CW Brabender Instruments, Inc, NJ, EUA) con diámetro de tornillo de 19 mm; longitud al diámetro 20:1; una razón de compresión nominal 2:1 y una apertura del dado de 2.4 mm. El cilindro del extrusor está dividido en dos zonas independientes calentadas eléctricamente y enfriadas con aire. Las variables que se emplearon durante el proceso de extrusión son: temperatura inicial en el extrusor fue de 70°C, siguiendo una temperatura media de 90°C y una temperatura final de 150°C. La velocidad de alimentación fue de 40 rpm y la velocidad de tornillo de 150 rpm.

Para llevar a cabo el proceso, las harinas fueron humedecidas con agua destilada e introducidas gradualmente en la tolva, pasaron por la cámara de calentamiento durante 2 a 3 segundos y recibidas en forma de pellets al final de la cámara cilíndrica, (Fig. 5), posterior a la extrusión fue necesario moler y tamizar nuevamente cada harina experimental extrudida.



Figura 5. Proceso de extrusión de harina de semillas de yaca.

6.6. Análisis Químico Proximal

Las harinas con y sin proceso de extrusión se sometieron a un análisis químico proximal al igual que las dietas terminadas, siguiendo la metodología propuesta por la AOAC, (1998), a continuación se describe cada uno.

6.6.1. Proteína cruda por Método Kjeldahl

El método propuesto por Kjeldahl, se basa en la completa conversión de todas las formas de nitrógeno a una sal inorgánica de amonio; de tal manera que el punto final del análisis involucra la determinación de este producto. Es el método más común y por lo tanto permite comparar fácilmente resultados con otros laboratorios.

El principio sobre el cual se basa esta determinación es la consideración de que la mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada del 16% de nitrógeno y a partir de este porcentaje se puede calcular el factor “6.25” y al multiplicar dicha cantidad por el porcentaje de nitrógeno obtenido, se estima el contenido de proteína de la muestra analizada. A esta determinación de proteína se le denomina cruda, por lo que no es una medición directa de la proteína, sino una estimación de la proteína total basada en el contenido en nitrógeno del alimento (nitrógeno x 6,25 = proteína cruda).

$$\text{Factor} = \frac{100 \text{ g de proteína}}{16 \text{ g de nitrógeno}} = 6.25 \qquad \% \text{ nitrógeno} = \frac{V_1 - V_2 + N * 14.007}{\text{peso de la muestra (mg)}} * 100$$

Donde,

V_1 = mililitros usados en la muestra

V_2 = mililitros usados en el blanco

N = normalidad del HCl

14.007 = constante de HCl

Por tanto, % Proteína cruda = % nitrógeno * Factor

El método Kjeldahl se basa en tres etapas: digestión, destilación y titulación; en el proceso de digestión se pesaron 100 mg de la muestra en papel Whatman, se introdujo en el tubo para digestión, se adicionaron 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), se añadió una pastilla catalizadora (Kjeltabs Cu/3.5), se colocó en el digestor a 350 °C durante 25 minutos, hasta que tomó un color verde menta que indicó el final de la digestión y se dejó enfriar. Por cada tratamiento se colocó un blanco en el que se digirió sólo el papel Whatman sin muestra y se hizo por triplicado.

En la destilación se añadieron 30 ml de agua destilada al tubo con la muestra caliente digerida, se transfirió completamente al tubo destilador y se colocó en el equipo de destilación marca Foss Kjeltac 8200, se colectó la muestra con un color azul intenso en un matraz Erlenmeyer de 250 ml durante 5 min.

Para la titulación se llenó la pipeta con ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N, se sostuvo el matraz con la muestra colectada con un goteo lento, pero constante y se detuvo en el momento en que viró a un color rosa-canela; se tomó lectura de los ml necesarios para saturar la solución y producir el cambio de color, con lo cual se introdujeron en la ecuaciones para calcular el nivel de proteína.

6.6.2. Contenido de humedad por desecación

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y 95% en los alimentos naturales. El agua en los compuestos alimenticios existe en dos formas generales: "agua libre" y "agua ligada". El agua libre o absorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad y es estimada en la mayor parte de los métodos usados para el cálculo del contenido en agua. El agua ligada se halla combinada como agua de cristalización (en los hidratos) o ligadas a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales. Estas formas requieren para su eliminación en forma de vapor un calentamiento de distinta intensidad. Esa fracción de

agua que se halla firmemente unida no se libera durante la desecación. La pequeña cantidad de agua que permanece tiene escasa importancia en el control químico siempre que el método utilizado proporcione resultados reproducibles que se encuentren relacionados con las propiedades del producto.

Se pesaron 5 g de la muestra, se colocó en un vidrio de reloj previamente tarado en la balanza analítica; posteriormente, se llevó a la estufa de desecación con una temperatura de 105 °C durante 4 horas, después se dejó enfriar durante 15 minutos en el desecador, y luego se procedió a pesar de nuevo, para determinar la pérdida de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100$$

Donde W_i es el peso inicial y W_f es el peso final después de la desecación.

6.6.3. Cenizas

Las cenizas de un alimento son equivalentes al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes. La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (Nollet, 1996).

En un crisol se pesaron 0.5 g de la muestra y se procedió a incinerar en la mufla a 550 °C, durante 8 horas, después se dejó enfriar, y se pesó nuevamente para calcular la diferencia.

$$\% \text{ Cenizas} = \left(\frac{W \text{ cenizas}}{W \text{ muestra}} \right) * 100$$

Donde, W cenizas es el peso final después de la incineración y W muestra es el peso inicial.

6.6.4. Determinación de lípidos por método Soxhlet (extracto etéreo).

Los lípidos, junto con las proteínas y carbohidratos, constituyen los principales componentes estructurales de los alimentos. Los lípidos se definen como un grupo heterogéneo de compuestos que son insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos tales como éter, cloroformo, benceno o acetona.

Es una extracción semicontinua con un disolvente orgánico, en este caso el éter de petróleo. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza por evaporación y el residuo de grasa queda en el beaker, en este caso triglicéridos.

Se pesó 2 g de muestra sobre un papel filtro, se colocó en un dedal, se llevó a una estufa de secado a 105 °C durante 24 h, se dejó enfriar en el desecador durante 15 min, se introdujo en un beaker previamente secado en horno y pesado. Se adicionaron 50 ml de éter de petróleo y se colocó en el extractor de grasas durante 5 horas hasta que terminó el proceso. Luego se dejó reposar el beaker en un desecador por 20 minutos y finalmente se pesó el residuo.

$$\% \text{ Grasas} = \left(\frac{W_3 - W_2}{W_1} \right) \times 100$$

Dónde: W_3 = peso beaker + residuo (g), W_2 = peso beaker vacío (g), W_1 = peso de la muestra (g)

6.6.5. Fibra por el método de hidrólisis ácido-básica

Este método, permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y, finalmente, calcinado el residuo.

Se pesó la muestra desengrasada que fue sometida al extractor de grasas por el método Soxhlet y se dejó enfriar en un crisol para ser introducida al extractor de fibra, se le adicionó la

solución de ácido sulfúrico 0,255 N, cinco gotas de alcohol etílico y se dejó hervir por 30 min, después se filtró la muestra, se lavó dos veces con agua destilada hervida. Posteriormente, se realizó el mismo proceso, pero con la base, solución de NaOH 0,313 N y se dejó hervir durante 30 min más, luego se filtró, se lavó tres veces la muestra primero con agua destilada hervida, segundo con agua destilada fría y tercera con alcohol etílico. Finalizado el proceso, la muestra se llevó a una estufa a 105 °C durante 12 h, se dejó enfriar en el desecador y se pesó, se llevó a un horno mufla a 550 °C para calcinarla, durante 8 h, se enfrió en desecador y se pesó. Los resultados se determinaron a través de la siguiente fórmula:

$$\% FC = 100 \left(\frac{W_1 - W_2}{W_3} \right)$$

Dónde: W_1 = peso del crisol con el residuo seco (g), W_2 = peso del crisol con la ceniza (g), W_3 = peso de la muestra (g).

6.6.6. Extracto libre de nitrógeno (E. L. N.) por diferencia

En el extracto libre de nitrógeno se agrupan todos los nutrimentos no evaluados con los métodos señalados anteriormente dentro del análisis proximal, constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados; debido a que se obtiene como la resultante de restar a 100 los porcentos calculados para cada nutrimento, los errores cometidos en su respectiva evaluación repercutirán en el cómputo final (FAO et al., 1993).

E.L.N. = 100 – proteína cruda – extracto etéreo – cenizas – fibra cruda – humedad, expresado en porcentaje

6.7. Determinación de Factores Antinutricionales

Se determinaron 5 factores antinutricionales: ácido fítico, saponinas, taninos condensados, lectinas e inhibidores de tripsina, cada tratamiento se hizo por cuadruplicado. En todas las

técnicas en las que se realizó espectrofotometría, se utilizó un espectrofotómetro marca Spectronic Mod 21D, Milton Roy, EUA.

6.7.1. Ácido Fítico

El ácido fítico, se determinó por medio de la metodología de Vaintraub y Lapteva, (1988), la extracción se realizó mediante agitación (400 rpm/25°C/1 h) sobre 0.5 g de harina con 10 mL de HCl al 3.5% v v⁻¹. La suspensión se centrifugó (4000 rcf, 10 min) El sobrenadante se diluyó 1:50 y de esta solución se tomaron 0.2 mL y se le adicionó 1 mL del reactivo de Wade (0.03 g de FeCl₃ · 6H₂O + 0.3 g de ácido sulfosalicílico en 300 mL de agua destilada) y 2.8 mL de agua destilada. La mezcla se agitó vigorosamente 5 segundos. Los tubos se centrifugaron (4500 rcf, 25°C, 15 min) y se aisló el sobrenadante del cual se tomó lectura del color en un espectrofotómetro a 500 nm. La pérdida de color se registró a partir de la adición de ácido fítico a diferentes concentraciones. Se graficó esta pérdida del color (absorbancia) contra la concentración de ácido fítico, las unidades se expresaron en mg fitato g⁻¹ muestra.

6.7.2. Saponinas

La cuantificación de saponinas se basó en la reacción colorimétrica propuesta por Hiai, et al. (1976), la extracción se realizó sobre 0.5 g de harina en 10 mL de metano al 80% v v⁻¹ durante 16 h en agitador orbital. Los tubos se centrifugaron a 3800 rpm por 10 min y se recolectó el sobrenadante en tubos de vidrio de 25 mL. Se colocaron 200 µL del extracto, 50 µL de metano al 80% a temperatura ambiente. Los tubos se transfirieron a un baño de hielo donde se adicionó 250 µL de reactivo de vainillina (1.6 g de vainillina en 20 mL de metanol absoluto), los tubos se sacaron del baño de hielo y se les adicionó 2.5 mL de ácido sulfúrico al 72% v v⁻¹, se agitó en un vórtex, la mezcla se calentó a 60°C por 10 min, los tubos se enfriaron en un baño de hielo y la absorbancia se midió a 520 nm contra un blanco de reactivos. Se usó una curva de diosgenina (0 µg mL⁻¹ – 125 µg mL⁻¹). Los resultados se expresaron en mg diosgenina kg⁻¹ muestra.

6.7.3. Taninos Condensados

Para determinar taninos condensados se utilizó en método de la vainillina propuesto por Deshpande y Cheryan, (1985), con modificaciones, la extracción se llevó a cabo sobre 0.5 g de muestra y 5 mL de una solución al 1% de HCl en metanol. La suspensión se agitó durante 40 min a temperatura ambiente y se centrifugó (4500 rcf, 20 min, 30°C). A 1 mL de sobrenadante se agregaron 5 mL de reactivo de vainillina (50:50 v v⁻¹ al 1% en metanol y HCl al 8% en metanol) a razón de 1 mL min⁻¹. Se dejó reposar durante 20 min en oscuridad y se procedió a realizar la lectura en el espectrofotómetro a 500 nm. Se preparó un blanco de absorbancia cero con 1 mL de metanol adicionándole 5 mL de HCl al 4% a razón de 1 mL min⁻¹. Se construyó una curva estándar de catequina y los resultados se reportaron como mg equivalentes de catequina kg⁻¹ muestra.

6.7.4. Lectinas

La determinación de lectinas se realizó con base en la metodología de las diluciones seriadas con eritrocitos lavados en solución buffer de fosfatos (PBS) propuesta por Calderón de la Barca et al. (1985). La extracción de la harina se llevó a cabo en relación 1:10 (peso volumen⁻¹) en PBS (0.025 M Na₂HPO₄, 0.9% NaCl y 5 mM ácido de sodio) a 30°C durante 4 horas con agitación suave. El extracto se centrifugó a 3000 rcf 15 min, y el sobrenadante se diluyó 1:9 en PBS. De esta dilución se tomaron 50 µL de una suspensión de glóbulos rojos al 2% en PBS, los cuales fueron lavados previamente 3 veces con buffer. A partir de este pocillo se hicieron las diluciones sucesivas en los pocillos siguientes hasta obtener la máxima dilución donde no se observó aglutinación de los eritrocitos. Los resultados se expresaron como títulos de hemaglutinación en unidades de actividad hemaglutinante (UAH) por g de muestra, el cual representó el número máximo de diluciones hasta el punto donde ya no se observó aglutinación positiva.

6.7.5. Inhibidores de Tripsina

La actividad inhibidora de la tripsina se determinó por el método de Kakade et al. (1974), usando el sustrato sintético α -N-benzoil-DL-arginina- ρ -nitroanilina (BAPNA). La extracción se realizó con 1 g de harina en 50 mL de NaOH 0.01 N durante 3 h con mezclado continuo. Antes de la determinación, el pH del extracto se ajustó a 8.2 con HCl 0.1 N. Se pipetearon alícuotas del extracto (0.0, 0.3, 0.5, 0.7 y 1 mL) a tubos de ensayo y se ajustaron a 1 mL con agua destilada, posteriormente se agregaron a los tubos de 1 mL de solución de tripsina y 2.5 mL de solución de BAPNA. Los tubos se colocaron rápidamente en baño maría con agitación a 37°C durante 10 min. La reacción se detuvo con 0.5 mL de ácido acético al 30% y se procedió a medir la absorbancia a 410 nm. Una unidad de tripsina inhibida (UTI) se define como la disminución de 0.01 unidades de la absorbancia de las muestras con respecto a la concentración 0 del extracto (1 mL de agua destilada, 1 mL de tripsina y 2.5 mL de BAPNA). Los resultados se expresaron como UTI mg⁻¹ de muestra.

6.8. Formulación de dietas

Con base en los resultados obtenidos del análisis químico proximal de cada ingrediente se proyectaron las dietas con un nivel de proteína superior o igual al 40% (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química proximal de los ingredientes utilizados en dietas para bioensayo de digestibilidad de *Centropomus viridis*.

Componente	HP	HSY	HSYE	HF	HFE	HT	HTE
Proteína Cruda	52,02	41.69	41.65	44.01	43.97	40.01	40.02
Lípidos	12,1	8.59	8.57	8.97	8.85	9.30	8.89
Cenizas	12,58	10.64	10.58	10.06	10.03	11.01	11.00
Carbohidratos	19,65	34.76	34.94	32.31	31.30	36.14	36.16

Fibra	0,42	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
Humedad	3,23	4.03	3.97	4.36	5.56	3.25	3.64

Inicialmente se realizó la formulación para la dieta referencia (Tabla 1) con el cuadrado de Pearson en Microsoft Excel y con base en ésta, se calculó el remplazo parcial general de 300 g kg⁻¹ o 30% de toda la dieta por cada ingrediente experimental, es decir, se utilizaron 700 g kg⁻¹ o 70% de la dieta referencia y 300 g kg⁻¹ (30%) de las harinas experimentales extrudidas y sin extrudir, basado en la metodología de Köprücü y Özdemir, (2005) en Cho y Slinger, (1979); se utilizó en la formulación el óxido de cromo (Cr₂O₃) como marcador inerte.

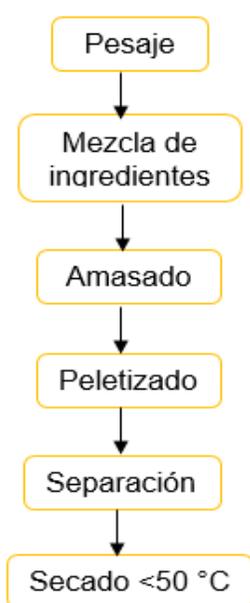
Tabla 2. Formulación de dietas formuladas para experimento de digestibilidad de juveniles de *Centropomus viridis*, expresado en porcentaje (%).

INGREDIENTES	DIETA REFERENCIA	HSY	HSYE	HF	HFE	HT	HTE
HSY		30					
HSYE			30				
HF				30			
HFE					30		
HT						30	
HTE							30
HARINA PESCADO	70	49	49	49	49	49	49
HARINA DE MAÍZ	15	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5
VITAMINAS	0,5	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
MINERALES	1,5	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
ÓXIDO DE CROMO	1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
GRENETINA	4	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8

ALMIDÓN	6	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
LECITINA DE SOYA	1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
ACEITE DE PESCADO	1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7

6.9. Elaboración de dietas

Una vez formuladas las dietas y los ingredientes dispuestos, el proceso para la elaboración de las dietas fue el siguiente:



Se registró el peso de cada ingrediente de la formulación, acorde con los cálculos, con una balanza digital. Para hacer la mezcla en una batidora eléctrica en baja velocidad, primeramente se agregó la harina experimental y de pescado, posteriormente las vitaminas, para después agregar los minerales, el óxido de cromo (predominando rápidamente el color verde en toda la masa), el almidón y al final los aceites de lecitina de soya y de pescado; se le dio tiempo de mezcla a cada ingrediente hasta que se observó homogenización y durante toda la mezcla se adicionó agua por aspersion en pequeñas cantidades acorde con la capacidad de absorción y potencial de expansión de cada dieta, para lograr la compactación de la masa. Posteriormente se elaboró el alimento pasando la mezcla a través de un molino para carne (marca

Torrey®) a un diámetro de dado de 2 mm y los pelets se deshidrataron en un horno (MMM-GROUP, Modelo: MC-001816) a 37 °C durante 12 horas. Por último, se partieron en trozos de 5-7 mm de largo con 3 mm Ø y se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

6.10. Bioensayo de digestibilidad

Se utilizó un diseño experimental con una distribución completamente al azar, se hizo la evaluación de digestibilidad de las dietas de origen vegetal y los nutrimentos en juveniles de *C. viridis* con peso promedio de 47.8±11.5 g y 19.1±1.4 cm. Cada tratamiento contó con 8

organismos distribuidos en 4 réplicas. Se mantuvo aireación constante, con un nivel promedio de oxígeno de $9.4 \pm 1.7 \text{ mg L}^{-1}$ y temperatura de agua de $23.5 \pm 2.6^\circ\text{C}$ (Fig. 6). Durante el periodo experimental se utilizaron cajas plásticas Novatec con capacidad de 60 L, cubiertas con malla de nylon para evitar la salida de los peces y se cubrió todo el sistema con un techo plástico negro para reducir la iluminación, crecimiento de microalgas y el estrés de los organismos.

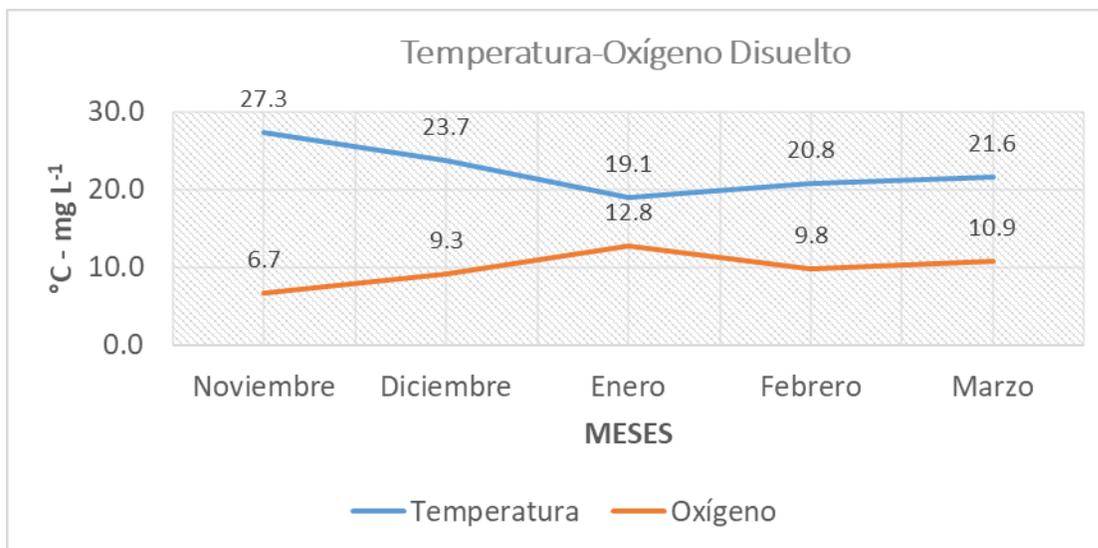


Figura 6. Comportamiento de variables físico-químicas principales, temperatura y oxígeno disuelto.

Los peces se mantuvieron en ayuno durante 5 días para vaciar completamente el tracto digestivo; la alimentación fue a saciedad, 3 veces al día a las 09:30, 13:30 y 16:00 horas (García-Galano et al., 2003); y la muestra fecal fue colectada usando el método de colección fecal en la columna descrito por Cho et al. (1982) 2 horas después cada alimentación con una pipeta Pasteur-Nalgene y se congelaron a -20°C .

La determinación del óxido de cromo (Cr_2O_3) se realizó en Laboratorio de Nutrición Acuícola del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa (CIIDIR-SIN). El proceso consistió en secar las heces en un horno a temperatura constante de 40°C durante 15 horas, se maceró y se aplicó el método de digestión ácida de Furukawa y Tsukuhara, (1966); para lo cual se pesó 50 mg de heces de cada tratamiento por triplicado, se introdujo en un tubo de ensayo digestor de 100 ml, se añadió 5 ml de ácido

nítrico al 90% y se colocó en digestión hasta alcanzar una temperatura de 120°C y se dejó digerir durante 90 min hasta que desaparecieron los vapores ocreos y se notó un color verde claro; se retiraron los tubos del digestor y se dejaron enfriar a temperatura ambiente dentro de la campana de extracción. Posteriormente, se agregaron lentamente 3 ml de ácido perclórico, resbalando por la pared del tubo y se dejó digerir a 203°C durante 120 min hasta que viró de verde a amarillo limón; se dejó enfriar en la campana y se dio la formación de un color rojo que indicó el final de la digestión. Luego se aforó a 100 ml con agua destilada, se agitaron los tubos, se dejó reposar durante 5 min y se realizó la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 350 nm.

Los resultados de absorbancia obtenidos fueron introducidos en la ecuación: $Y = 0.2089X + 0.0032$

$$X = \frac{Y - 0.0032}{0.2089}$$

Dónde, X es la cantidad de óxido de cromo en la muestra (mg/100 ml), Y es la absorbancia, y, 0.0032 y 0.2089 son constantes.

Para calcular el % Cr_2O_3 es a través de la ecuación: $\% Cr_2O_3 = 100 * \left(\frac{X}{A}\right)$ dónde A es el peso de la muestra.

Posteriormente, se determinó el contenido proteínico de las heces fue evaluado por el método Kjeldahl (AOAC, 1998), descrito anteriormente.

6.11. Coeficientes de Digestibilidad Aparente

Para estimar los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de Materia Seca (CDAMS) y Coeficiente de Digestibilidad Aparente de la Proteínas (CDAP) de las dietas en general, se emplearon las ecuaciones de Maynard et al. (1981).

$$CDAMS = 100 - \left(100 * \frac{\% Cr_2O_3 \text{ en dietas}}{\% Cr_2O_3 \text{ en heces}}\right) \text{ Ecuación 1}$$

$$CDAP = 100 - \left(100 * \frac{\% Cr_2O_3 \text{ en dietas}}{\% Prot \text{ en dietas}} * \frac{\% Prot \text{ en heces}}{\% Cr_2O_3 \text{ en heces}} \right) \text{ Ecuación 2}$$

Dónde: CDAMS y CDAP se evalúan en (%); Cr es la cantidad de óxido crómico (Cr₂O₃) en las heces y en la dieta; Prot es la cantidad de proteína en las heces y en las dietas.

Con base en los resultados obtenidos a partir de las ecuaciones 1 y 2 se calcularon los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de Materia Seca de los Ingredientes (CDAMSI) ecuación 3 y los Coeficientes de Digestibilidad Aparente de la Proteína de los Ingredientes probados (CDAPI), ecuación 4.

$$CDAMSI = \left(\frac{(100 * CDAMS \text{ de DP}) - ((100 - \%IP) * CDAMS \text{ de DB})}{\% IP} \right) \text{ Ecuación 3}$$

$$CDAPI = \left(\frac{(100 * CDAP \text{ de DP} * \%prot \text{ en DP}) - ((100 - \%IP) * CDAP \text{ de DB} * \%Prot \text{ en DB})}{\% IP * \%Prot \text{ en IP}} \right) \text{ Ecuación 4}$$

Dónde: DB: Dieta basal o referencia; DP: Dieta experimental probada; IP: Ingredientes probados; Prot: proteína (nutrimento evaluado). Los resultados de CDAMSI y CDAPI se emiten en (%).

6.12. Análisis Estadístico

Se realizaron las evaluaciones estadísticas de los análisis químico proximal, CDA de MS y P de los ingredientes y dietas, así como de los antinutrientes, se utilizó el software computacional Statistics®, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza con las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Se realizó un análisis de varianza a una vía (ANOVA, P < 0.05) y para determinar las diferencias se aplicó la prueba de Tukey HSD; en el caso de no cumplimiento de alguno de los supuestos se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y para estimar las diferencias estadísticas significativas la gráfica de caja y bigotes con muescas de las medianas. Se corrió una Regresión Li para calcular la correlación entre los CDA y los antinutrientes.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Análisis químico proximal

La formulación y elaboración de las dietas balanceadas para peces se basan en los análisis químicos proximales de los ingredientes que cuantifican el contenido nutrimental con los que se formulan los alimentos, pero que no ofrecen información sobre las cantidades de micronutrientes requeridos por el organismo. Una aproximación que permite valorar la capacidad digestiva de los organismos es la utilización de métodos “*in vivo*”, donde se determinan parámetros o índices relacionados con el grado de aprovechamiento de las dietas, en relación con el nutrimento que las compone (Álvarez-González et al., 2010).

Los análisis químicos proximales de los ingredientes se mantuvieron en el intervalo de 12 a 66.5% para el nivel de proteína; 0.2 a 13.1% para lípidos; 0.1 a 7.1% para fibra; 2 a 17.5% para cenizas y de 2.8 a 79.5% para el extracto libre de nitrógeno (Tabla 2), sin diferir estadísticamente, con excepción de los lípidos en el que sí se presentaron diferencias estadísticas significativas en todas las harinas, notándose una reducción en el contenido lipídico en las harinas extrudidas.

Tabla 3. Análisis químico proximal de los ingredientes utilizados en este estudio.

Harina	Proteína	Lípidos	Fibra	Cenizas	ELN
Pescado	66.5±0.06	13.1±0.4	0.1±0.4	17.5±0.2	2.8
Frijol	25.34±0.4 ^a	1.67±0.2 ^a	7.1±0.3 ^a	4.18±0.3 ^a	61.81
Frijol Ext.	25.38±0.2 ^a	0.9±0.1 ^b	6.9±0.2 ^a	4.12±0.5 ^a	62.7
Sem. Yaca	17.6±0.01 ^a	0.4±0.08 ^a	5.87±0.05 ^a	6.1±0.06 ^a	70.03
Sem. Yaca Ext.	18.45±0.3 ^a	0.23±0.2 ^b	0.67±0.03 ^a	2.9±0.4 ^a	79.55

Trigo	12.3±0.02 ^a	3.1±0.03 ^a	3.06±0.05 ^a	7.33±0.04 ^a	74.61
Trigo Ext.	12.1±0.02 ^a	2.8±0.04 ^b	2.9±0.01 ^a	7.28±0.05 ^a	74.92

*Las diferentes letras indican diferencia significativa (P < 0.05)

Esto es debido a que el proceso de extrusión reduce la degradación lipídica. La oxidación lipídica ocurre cuando los hidroperóxidos sufren una ruptura en la que se generan los compuestos secundarios de la oxidación lipídica (aldehídos, cetonas, alcoholes y polímeros), (Lewis-McCrea y Lall, 2007), que además de tener acción citotóxica, son los responsables del sabor a rancio en los alimentos y representan una pérdida significativa de calidad, debido al decremento del contenido de ácidos grasos poliinsaturados (Aidos et al., 2003; Parra y Navarrete, 2009).

En el estudio de Crosa et al. (2013), evaluaron el efecto del proceso de extrusión en la degradación lipídica de harina de varios tipos de granos y derivados (soja, sorgo, avena, salvado y germen de trigo); se realizó seguimiento de ácidos grasos libres, humedad, actividad de agua y del desarrollo del descriptor “rancio-oxidado” por olfatación directa, en muestras de harina con y sin extrusión; se ajustaron funciones de regresión de la diferencia “sin extrusión” y “con extrusión”, para las medidas ácidos grasos libre, Aw, %H. Los resultados obtenidos indicaron que la extrusión disminuye significativamente la degradación lipídica de las harinas de sorgo, salvado, soja, avena; sin embargo, la harina de germen de trigo extrudida tuvo un aumento de rancidez por oxidación.

En nuestro estudio se observó que la reducción lipídica de la HF a HFE disminuyó en un 46.1%, también en la HSY a HSYE fue de 42.5% y en HT a HTE fue de 9.7%, una reducción pequeña en comparación con las otras harinas.

7.2. Factores Antinutricionales

Los resultados obtenidos de antinutrientes se pueden observar en la Tabla 3. De acuerdo a la comparación de medias se encontraron diferencias estadísticas significativas (P < 0.05) en la

mayoría de los tratamientos a excepción de la harina de trigo en la cual no se cuantificaron taninos en ninguno de los tratamientos.

Tabla 4. Antinutrientes evaluados en las fuentes vegetales utilizadas en las dietas del experimento.

Dietas	Ácido Fítico	Inhibidores de Tripsina	Taninos	Saponinas
HF	1.94 ± 0.06 ^a	10.51 ± 0.23 ^a	216.11 ± 14.1 ^a	1895.5 ± 50.9 ^a
HFE	1.60 ± 0.06 ^b	0.28 ± 0.02 ^b	180.30 ± 0.95 ^b	1226.5 ± 33.9 ^b
HSY	1.75 ± 0.01 ^a	2.494 ^a	65.33 ± 3.2 ^a	889.44 ± 41 ^a
HSYE	1.69 ± 0.02 ^b	0.0956 ^b	12.93 ± 1.8 ^b	517.22 ± 69 ^b
HT	0.62 ± 0.16 ^a	0.23 ± 0.01 ^a	Sin Taninos	926.74 ± 34.2 ^a
HTE	0.4 ± 0.02 ^b	0.11 ± 0.005 ^b	Sin Taninos	719.68 ± 12.61 ^b

*Las diferentes letras indican diferencia significativa (P < 0.05)

**Los valores promedios están expresados en las unidades: ácido fítico (mg fitato g⁻¹ muestra), inhibidores de tripsina (UTI mg⁻¹ muestra), taninos (mg catequina kg⁻¹ muestra) y saponinas (mg diosgenina kg⁻¹ muestra) ± SD

Una importante reducción de antinutrientes se obtuvo en inhibidores de tripsina, la harina de frijol presentó un decremento del 97.33% cuando se le aplicó el proceso de extrusión (HFE); seguida de la HSY-HSYE que fue del 96,16%, mientras que en el caso de HT-HTE fue del 52.17%.

En lo correspondiente a los antinutrientes termoestables, las saponinas se redujeron en 35.29% (HF-HFE), 41.57% (HSY-HSYE) y 22.67% (HT-HTE); por su parte con el ácido fítico se observaron reducciones mínimas del 3.43% (HSY-HSYE), 17.52% (HF-HFE) y 35.48% (HT-HTE). En taninos se presentó una importante reducción del 80.21% en HSY-HSYE, para HF-HFE fue del 16.37%, mientras que en HT-HTE no se detectaron taninos.

La efectividad del proceso de extrusión en la reducción óptima de los factores antinutricionales depende de la intensidad de los parámetros del proceso, como la velocidad del tornillo, la temperatura del barril, el contenido de humedad de la alimentación y la presión de extrusión. Además de causar una reducción de los factores antinutricionales, el tornillo de

un extrusor influye en el grado de cocción, la gelatinización y la dextrinización del almidón y la desnaturalización de proteínas, (Guy, 2016). La extrusión es una forma más consistente de causar la descomposición térmica/química a los factores antinutricionales y al mismo tiempo, puede alterar la naturaleza física, química y nutricional de los nutrimentos de una manera deseable (Milán-Carrillo et al., 2002). Por lo tanto, existe una inmensa oportunidad para aplicar esta versátil técnica de procesamiento para producir alimentos basados en semillas altamente nutritivos para alimentación de mascotas y animales así como para el consumo humano, (Nikmaram et al., 2017).

Es de considerar que la mayoría de los granos de cereales son bajos en factores antinutricionales (Francis, et al., 2001), por ello no es extraño no haber encontrado taninos en la HT y HTE y en general los porcentajes más bajos de antinutrientes, es por eso que se utilizan como aglutinante y/o para compactar la estructura de los pellets. También por sus bajos niveles de proteína y lípidos, su aporte es más de carbohidratos que no tienen valor nutrimental para los peces.

Por su parte, las saponinas presentan poca actividad antinutricional, pues no perjudican al hombre en las cantidades que normalmente se encuentran, pero pueden ser tóxicas para los peces (Buitrago, 1992; Lacaille-Dubois y Wagner, 1996). Sin embargo, tras el desarrollo de varios estudios se ha llegado a la conclusión que los compuestos denominados “antinutricionales” en pequeñas cantidades pueden ser muy beneficiosos en la prevención de enfermedades; razón por la cual ahora se les ha denominado “compuestos no nutritivos”, o “factores nutricionalmente bioactivos”, ya que si bien carecen de valor nutritivo, no resultan perjudiciales en pequeñas cantidades. (Elizalde, et al., 2009).

En el caso de las lectinas, el cálculo se realizó por aglutinación de eritrocitos, unidades de actividad hemaglutinante (UAH) g^{-1} de muestra, considerando el pocillo y la dilución donde se observó la última aglutinación positiva; este procedimiento evidenció que sólo la HF tenía lectinas y presentó 9 títulos dilución de aglutinación positiva (Tabla 4), mientras que en HFE no hubo aglutinación de glóbulos rojos en ningún título por lo que el proceso de extrusión fue efectivo en un 100% para la eliminación total de lectinas; la HT y HTE en ninguno de las dos

se presentó aglutinación positiva (Figura 7) y en la HSY y HSYE no fue posible llevar a cabo la determinación.

Tabla 5. Determinación de lectinas en HF con pocillos de dilución, en UAH g^{-1} de muestra.

Pocillos	Dilución	UAH g^{-1}	UAH mg^{-1} de proteína	$mg mL^{-1}$
1 pocillo	1	10	3	
2 pocillo	2	20	7	
3 pocillo	4	40	13	
4 pocillo	8	80	27	
5 pocillo	16	160	53	
6 pocillo	32	320	107	
7 pocillo	64	640	213	
8 pocillo	128	1280	427	
9 pocillo	256	2560	853	3

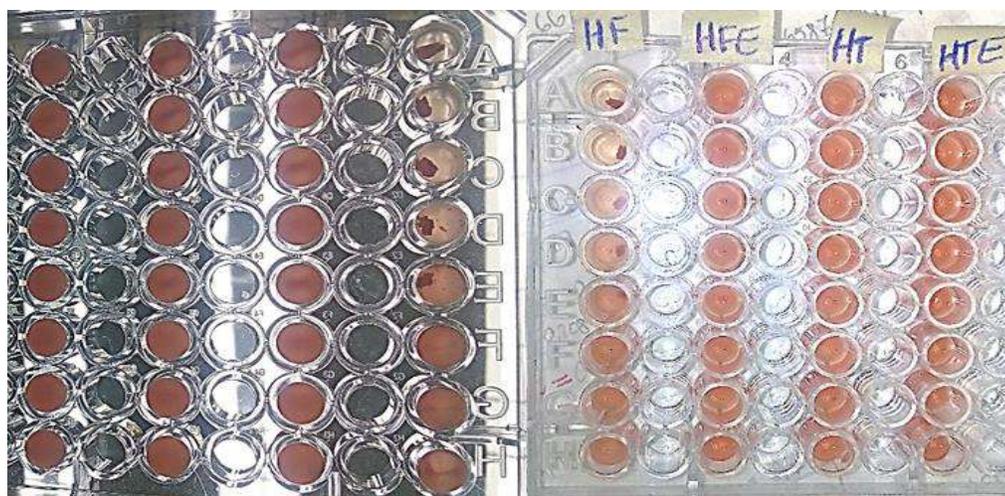
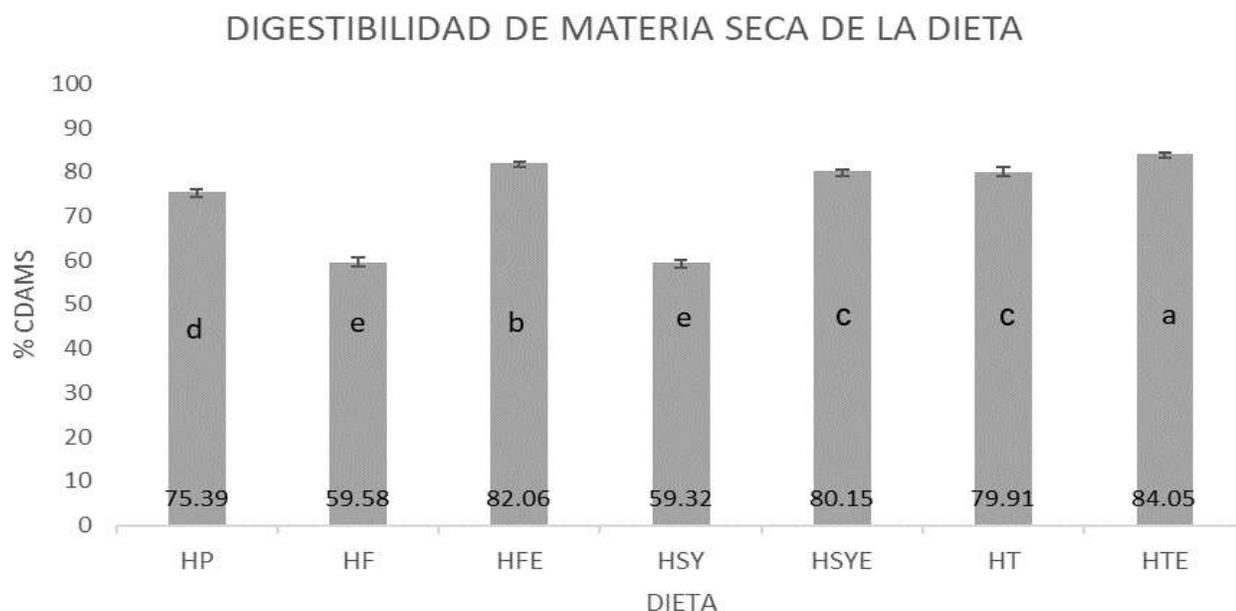


Figura 7. Aglutinación de eritrocitos en HF por presencia de lectinas y HT y HTE sin lectinas.

7.3. Coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca y proteína de las dietas

Los resultados de CDAMS de las dietas con y sin proceso de extrusión se presentan en la Figura 8, así como también la dieta referencia; se encontró un aumento en la digestibilidad



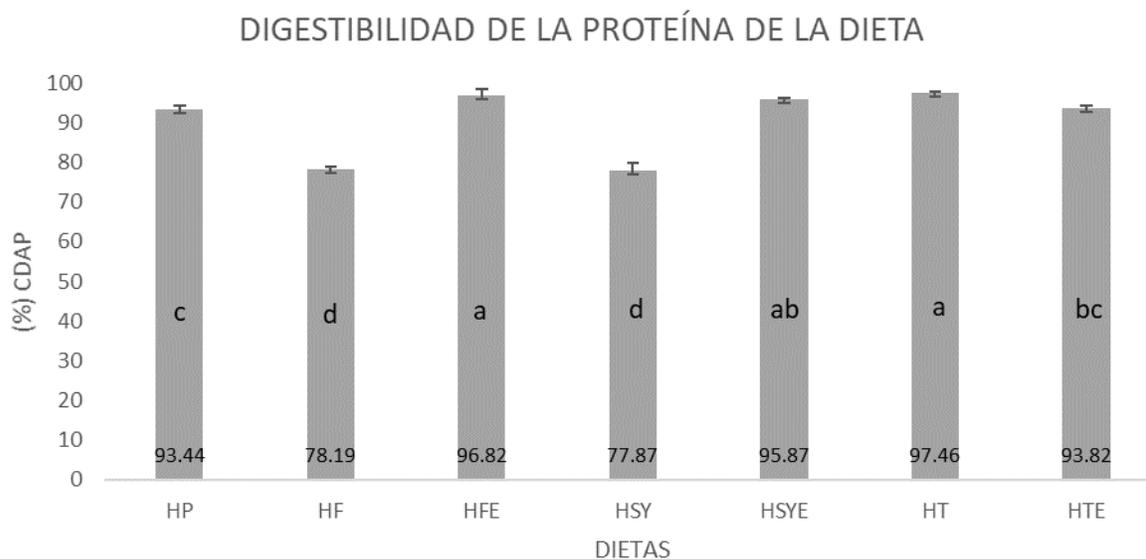
*Las diferentes letras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 8. CDAMS de la dieta del *Centropomus viridis*.

del 27.39% en la HFE con respecto a la HF con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$); del 25.99% en la HSYE respecto a la HSY, también con diferencia estadística entre ellas y del 4.93% en la HTE respecto a HT, con diferencia estadística. Cabe resaltar que la HTE destaca entre las dietas con diferencia estadística respecto a las demás, seguida de la HFE, mientras que la HSYE y HT están en el mismo nivel y esta última es la única que sin proceso de extrusión, obtuvo un CDA comparable con las extrudidas. En comparación con la dieta referencia se observa diferencia significativa con respecto a las extrudidas, aunque también con la HT. Por lo que se resalta la alta efectividad de la extrusión para lograr un aumento en la digestibilidad fuentes vegetales extrudidas en dietas para *C. viridis*.

En cuanto al CDAP, se observa en la Fig. 9 que se destacan tres dietas en mismo nivel, es decir, sin diferencias estadísticas entre ellas, HSYE, HFE y HT, por lo que se puede usar en

dietas para el robalo y esperar la misma capacidad de absorción proteínica. La HTE no difiere de la HSYE, pero sí difiere de la dietas sin extrusión HT, su contraparte. La HP es diferente estadísticamente de las dietas sin proceso de extrusión, está en el mismo nivel que la HTE.



*Las diferentes letras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 9. Coeficiente de Digestibilidad Aparente (CDA) en % de la proteína (P) de la dieta para el *Centropomus viridis*.

Las harinas extrudidas y HT presentaron altos valores de CDAMS y CDAP, por lo que este proceso es necesario si se pretende suministrar estas fuentes vegetales al robalo. En general, esto es un buen indicador de que fueron digeridas y absorbidas, por lo que sí se pueden utilizar en dietas para *Centropomus viridis*.

Lemus et al. (2017), obtuvieron resultados *in vivo* con *C. undecimalis* similares a los de este estudio, en CDAMS estuvo en el rango de 59 a 74% y en este estudio estuvo entre 59 y 84%, mientras que en CDAP estuvo entre 89 y 92%, nosotros entre 77 y 97% y particularmente en común, usaron gluten de trigo con valores de 65.8% CDAMS y 89.9% CDAP, en nuestros resultados con trigo comercial sin extrusión estuvo en 79.91% CDAMS y 97.46% CDAP y con extrusión en 84.05% CDAMS y 93.82%. También en este estudio la dieta referencia fue superada por otras dietas.

Los ensayos de digestión *in vitro* simulan las condiciones fisiológicas de la digestión *in vivo* y son herramientas útiles para estudiar y comprender los cambios, las interacciones, así como la bioaccesibilidad de nutrimentos, medicamentos y compuestos no nutritivos. Sin embargo, la incapacidad para reproducir ciertos eventos de digestión *in vivo*, así como los múltiples modelos de digestión *in vitro*, apuntan a la necesidad de optimizar y validar el método con ensayos *in vivo* para evaluar sus limitaciones (Lucas-González et al., 2018).

Algunos estudios han reportado el uso de otras fuentes alternativas de proteína en dietas para peces, reemplazando parcialmente la harina de pescado, esto se ha hecho ya una necesidad evidente, así Wang et al. (2016), evaluaron el reemplazo de harina de pescado por proteínas vegetales mixtas y harina de gusanos en el crecimiento en carnívoros juveniles de rodaballo, *Scophthalmus maximus L.* en diferentes porcentajes de inclusión y concluyeron que la harina de pescado solo podría ser reemplazada por proteínas vegetales a niveles limitados en los alimentos acuícolas, especialmente para los peces carnívoros y demostró que una dieta con gusanos es una fuente potencial de proteína valiosa para el rodaballo.

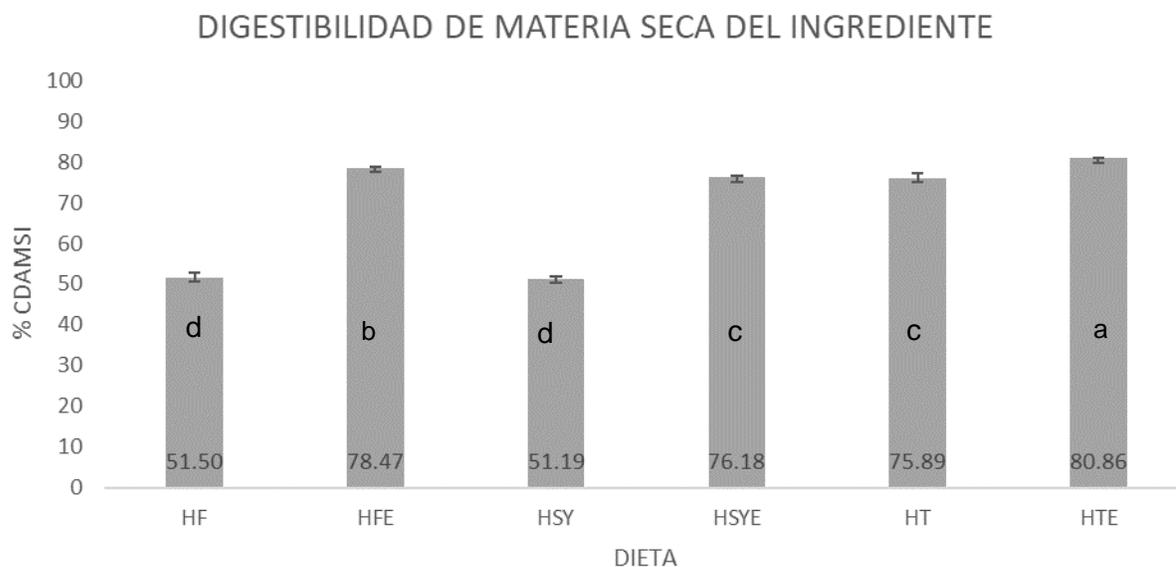
Glencross, (2011), encontró una fuerte correlación entre la dieta y la digestibilidad de los ingredientes de desechos de granos y aves entre 2 especies carnívoras; la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de agua dulce y el barramundí (*Lates calcarifer*) de agua marina, lo que indicó que existe un potencial considerable para la aplicación de los datos de digestibilidad de una especie carnívora a otra. Por tanto y partiendo de esta base, se asume que esta relación es aún más estrecha entre especies del mismo género, por lo que en el estudio reportado con el *Centropomus undecimalis* evaluado por Lemus et al. (2017) se esperaba que en la digestibilidad *in vivo* de fuentes de origen vegetal los resultados fueran similares y se pudo corroborar en el caso de la harina de trigo y por tanto los resultados del grado de hidrólisis de la digestibilidad *in vitro* puede asumirse que serán análogos si se hicieran en el *Centropomus viridis*.

Por tanto, cuando se logra comprender la capacidad digestiva de los organismos, es posible aplicar estos conocimientos en aspectos relacionados a la nutrición animal. Estos estudios ayudan a determinar la cantidad de proteína que puede ser reemplazada en la dieta al usar

fuentes alternas, siendo una herramienta muy útil durante el cultivo de organismos, donde a través de estos estudios de digestibilidad se seleccionan los ingredientes y se mejoran las fórmulas para su alimentación (Álvarez-González et al., 2010).

7.4. Coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca y proteína de los ingredientes experimentales

Los resultados de digestibilidad de las dietas fueron base para los cálculos de digestibilidad de los ingredientes. En los resultados obtenidos con los ingredientes en CDAMSI se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en las harinas extrudidas con respecto a las no extrudidas, en todos los casos (Fig. 10). En cada tratamiento se observó que los ingredientes vegetales en las dietas con proceso de extrusión tienen los mayores CDAMSI y por el contrario las no extrudidas los valores más bajos, aunque se presenta un comportamiento similar al que se presentó en la dieta con HT ya que no presenta diferencia significativa con la HSYE la cual tiene proceso de extrusión.



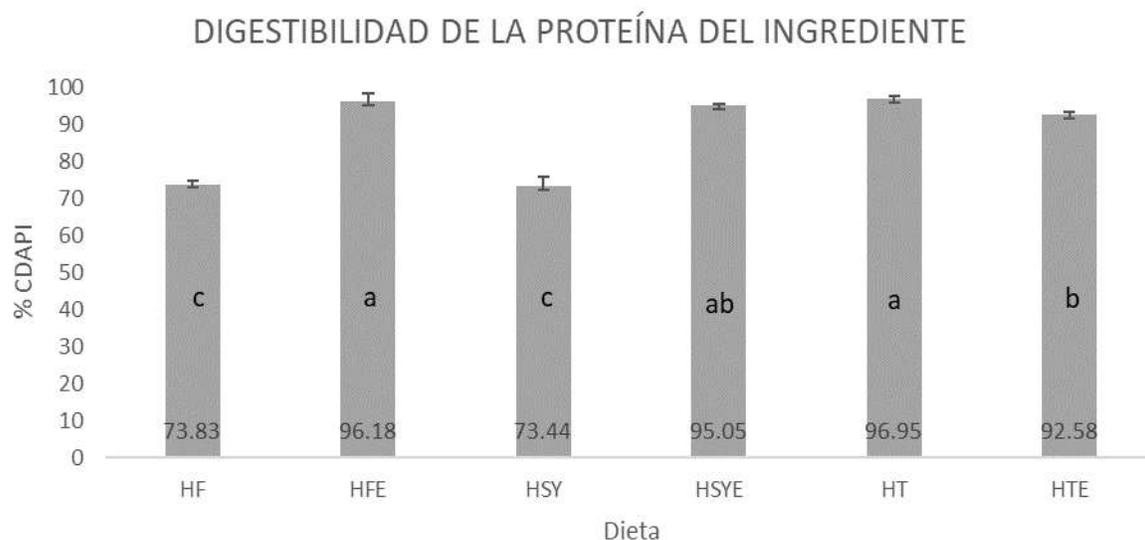
* Las diferentes letras indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$)

Figura 10. Coeficiente de digestibilidad aparente de materia seca del ingrediente experimental evaluado en *Centropomus viridis*

En la HF a HFE el aumento fue de 34.37%, mientras que en la HSY a HSYE fue del 32.80% y en HT a HTE fue del 6.15%; los valores en general oscilaron en un rango de 51 a 80%. El mayor CDAMSI se obtuvo con la HTE destacándose como la mejor con diferencia significativa con respecto a los otros tratamientos, seguida de la HFE que también marcó diferencia con respecto a la HT y HSYE, éstas presentan el mismo nivel, sin diferencias entre ellas. Se observa que no existen diferencias entre la HSY y la HF ambas sin proceso de extrusión y presentaron los valores más bajos.

El uso del proceso de extrusión ha mostrado tener un beneficio significativo en la digestibilidad de almidón para muchas especies (Cheng y Hardy, 2003; Krogdahl et al., 2005).

En cuanto a la digestibilidad de la proteína que aportó cada ingrediente los resultados se observan en la Figura 11.



*Las diferentes letras indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Figura 11. Coeficiente de digestibilidad aparente de la proteína de los ingredientes de origen vegetal evaluados en el robalo *Centropomus viridis*; expresado en %.

Se observaron diferencias significativas entre HF – HFE y la HSY – HSYE, sin embargo en la HTE – HT se encontraron diferencias entre la harina que no se le aplicó extrusión con respecto a la que sí fue procesada y esto fue un comportamiento similar también en la dieta, contrario a

las demás. De forma general, no hubo diferencias significativas entre la HFE, HSYE y HT, por lo que cualquiera de las tres se puede utilizar para formular dietas para robalo y alcanzar un alto nivel de digestibilidad. Asimismo, no se presentaron diferencias entre HSYE y HTE, todas estas con coeficientes por encima del 92%, ni entre las no extrudidas HF y HSY ambas con 73%, el valor más bajo.

En las Figuras 9 y 11, una corresponde a la dieta y otra al ingrediente, en ambas se evalúa la proteína, se observa un comportamiento similar en ambas figuras con respecto a la HT y HTE cuyo comportamiento es inverso, al punto que hay diferencias estadísticas significativas que señala a la harina sin proceso de extrusión como mejor y esto es debido a que se utilizó una forma comercial del trigo que está compuesto principalmente por el gluten cuyo contenido es mayormente de carbohidratos y proteínas, es decir, hubo una eliminación previa del salvado o cascarilla.

Se llevó a cabo un análisis de correlación entre los coeficientes de digestibilidad y los factores antinutricionales y en todos los casos se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$), lo que demuestra que a menor cantidad de antinutrientes en los ingredientes y dietas mayor será la digestibilidad de la proteína vegetal.

A nivel mundial se ha vuelto una práctica habitual el uso de cereales como trigo, avena, maíz, etc., en la formulación de dieta para organismos carnívoros (Gatlin et al., 2007; Hardy, 2010); se usa principalmente el almidón cuya función principal en el pellet es darle compactación y expansión con ayuda del proceso de extrusión (Hilton et al., 1981).

Durante la extrusión se usan altas temperaturas en un corto tiempo a la vez que se combinan varios procesos que incluyen transferencia de calor, presión, reducción del tamaño de partículas que se traducen en cambios fisicoquímicos en la materia y esto implica pérdida de la conformación nativa, recombinación de fragmentos y degradación térmica (Nikmaram et al., 2017; Riaz, 2000), en los otros dos tratamientos la semilla de yaca y el frijol iban con su estructura original; es decir, sin un proceso previo, por lo que probablemente la extrusión fue eficaz en la retención de los nutrimentos destruyendo principalmente a los factores antinutricionales que envuelven a los nutrimentos, gelatinizó al almidón, aumentó la fibra dietética soluble y disminuyó la oxidación lipídica (Nikmaram et al., 2015). Mientras que la

proteína del trigo iba expuesta y posiblemente sufrió desnaturalización, por lo que hubo una separación de las subunidades de la proteína o corrompieron su posición espacial, enlaces no covalentes, es decir alteración de la estructura interna y disposición de las cadenas peptídicas, sin pérdida de los enlaces peptídicos (Isaac et al., 2004). Es por ello, que en los CDAP y CDAPI se observa esta anomalía, sin embargo cabe resaltar que a pesar de ello, es aprovechada reflejándose en sus altos coeficientes, en ambas se observan valores elevados de digestibilidad. Por otra parte, en los resultados de análisis químico proximal en nivel de proteína de la HT fue de $12.3 \pm 0.02\%$ y la HTE de $12.1 \pm 0.02\%$ mostrando una ligeramente disminución, aunque sin diferencias estadísticas. No obstante, esto permite entender que la extrusión es un proceso eficaz y que no es necesario combinarlo con otros procesos ya que se puede dar un efecto contrario como en este caso, un comportamiento similar se encontró en el estudio de Cheng y Hardy, (2003), trabajó con trucha arcoíris de hábitos carnívoros, usaron varios tratamientos y entre esos el trigo integral, los pre-condicionaron a temperaturas entre 89 y 93 °C y los sometieron a extrusión, contrarrestaron a estos sin aplicarles el pre-condicionamiento, ni la extrusión; en sus resultados particularmente con el trigo, encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) y valores más altos en el trigo que no se sometió a ningún proceso 95.6% y de 90.2% al trigo pre-condicionado y extrudido; cuyo comportamiento fue similar a nuestros resultados.

Desde otro punto de vista, hay una importante influencia de la gelatinización del almidón que causa la extrusión sobre las harinas, así un estudio llevado a cabo por Glencross et al. (2011), evaluaron diferentes cereales y se encontró que la digestibilidad del almidón de la dieta varió de 49.1% a 93.9% en el *Lates calcarifer*. En el ingrediente, la digestibilidad del almidón varió de 18.0% a 96.5% y demostró que el *L. calcarifer* tienen una capacidad limitada para digerir almidón y que hay un efecto del nivel de inclusión en la habilidad del animal para digerir este nutrimento. Pero también demuestra que existe una amplia gama de fuentes de cereales que pueden ser efectivas, utilizado activamente como fuentes de almidón en las dietas extruidas para esta especie; entre los cereales evaluados se incluyó el trigo extrudido y obtuvo un CDAPI de 100.2%, siendo éste el resultado más alto, con diferencia significativa y el autor explica que cuando el cálculo emite resultados por encima del 100% implica que hubo una

pérdida potencial de la aditividad de los supuestos de digestibilidad que se utilizaron en la formulación de las dietas.

Se resalta entonces que los mejores tratamientos se lograron con las dietas extrudidas con CDA superiores al 75% en el caso de materia seca del ingrediente y superiores al 92% en el caso de la proteína que aportaba el ingrediente, incluyendo también a la HT. Lo que muestra a su vez que la proteína aportada por los ingredientes vegetales son altamente aprovechadas por el robalo.

La asimilación de nutrimentos explica entonces la digestibilidad del nutriente y la capacidad digestiva del pez, (Kolkovski, 2001). Si la proteína del alimento no es la apropiada para los requerimientos fisiológicos del organismo esta no puede ser completamente asimilada (Córdova-Murueta y García-Carreño, 2002), siendo entonces la eficiencia del alimento determinada por la función de sus aminoácidos esenciales (Nankervis y Southgate, 2006).

Lemus *et al.* (2017), destaca que las fuentes de origen animal marino/terrestre son absorbidas y digeridas con mayor efectividad y eso es de esperarse por tratarse de organismos carnívoros, pero cabe resaltar, los altos porcentajes de CDA en digestibilidad *in vivo* en ambos estudios con la aplicación de procesos a fuentes vegetales que son ingeridas, digeridas y absorbidas por estos organismos. El autor se plantea el interrogante ¿Qué beneficio podría obtener Centropomidae de las fuentes vegetales? Y responde que gluten de trigo nativo produjo un alto grado de hidrólisis y CDAP. Por lo tanto, a pesar de sus hábitos carnívoros, Centropomidae mantuvo un nivel de digestibilidad para las fuentes vegetales. En la prueba *in vitro* observaron que el estómago no discriminó entre gluten de trigo y otras fuentes después de 15 min y esta ausencia de diferencia se mantuvo en el intestino; todas las demás fuentes liberaron cantidades iguales de aminoácidos después de 45 minutos en el intestino. Esto indica una eficiencia potencialmente similar para la acumulación de tejido independientemente de las fuentes proteínicas.

Según Hernández *et al.* (2015), el conocimiento de los valores de CDA para ingredientes de origen vegetal permitirá a los productores de alimento balanceado, desarrollar formulaciones de piensos nutrimentalmente equilibradas y de bajo costo para esta especie.

El mejor aporte de conocimientos de este estudio es la primera evaluación del potencial de digestibilidad de absorción de ingredientes de diferentes fuentes de origen vegetal: frijol azufrado (leguminosa), trigo (cereal) y semillas de yaca (fruto), aplicándole un proceso de extrusión, lo que nos permitió comparar la eliminación y/o reducción de factores antinutricionales en estas fuentes, evaluado en juveniles de robalo *Centropomus viridis*, una especie muy poco estudiada, a pesar de la gran importancia que tiene en el Pacífico Mexicano.

Por lo que el hecho de haber logrado la ingestión, digestión *in vivo* y absorción de fuentes proteínicas de origen vegetal en el *C. viridis* es un excelente avance, ya que esto representa una base fundamental para posteriormente evaluar su engorde en cultivo, dando uso a recursos desechados como la semilla de yaca, el frijol no exportado y el trigo comercial. Hay que resaltar que el proceso de extrusión fue vital para obtener tales resultados ya que por sus características tiene mayor eficiencia en los factores antinutricionales termolábiles como son los inhibidores de proteasas (tripsina y quimiotripsina) y las lectinas; así como una importante reducción en termoestables saponinas, taninos y ácido fítico.

Es por ello, que la extrusión empieza a tomar auge ante la importancia de adquirir este tipo de tecnologías que a corto plazo, permiten formular y hacer el alimento propio de consumo en un cultivo, con una gama muy variable susceptible a ser evaluadas como fuentes de proteína o se establece también como una fuerte alternativa para que la industria dedicada a la elaboración de alimento balanceado para engorda de peces considere remplazar la harina de pescado y así disminuir con ello los costos de producción y por supuesto cuidar los recursos marinos y continentales. Es posible también, que la mezcla de diferentes fuentes vegetales que se logren complementar con una fuente animal terrestre puede lograr el pool de aminoácidos que son requeridos por los peces.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que es posible incluir fuentes de origen vegetal en dietas para el robalo *Centropomus viridis*, encontrando altos porcentajes en los CDA y que particularmente la proteína aportada por estas fuentes fue asimilada en porcentajes

superiores al 92%, los mejores tratamientos se lograron con las dietas extrudidas con CDA superiores al 75% en el caso de materia seca del ingrediente, incluyendo también a la HT, por lo que es posible proceder a su evaluación en cultivo y considerar pruebas hematológicas y de aminoácidos para conocer su contenido y asegurar un crecimiento saludable.

Los resultados del presente trabajo muestran que se pudo realizar el estudio de la digestibilidad de fuentes vegetales en alimento inerte en robalo (*Centropomus viridis*), que es el primer paso a realizar en la evaluación de nuevos ingredientes en dietas balanceadas para organismos acuícolas.

En general hubo un alto aprovechamiento de las dietas y de los ingredientes que se reflejó en los altos CDA con proceso de extrusión junto con la HT comercial.

El haber logrado la ingestión, digestión, absorción y excreción de estas dietas con fuentes proteínicas vegetales extrudidas es un paso de gran importancia, considerando que se trata de un pez carnívoro de alto valor comercial.

Es inminente el uso del proceso de extrusión como alternativa para poder sustituir en la dieta con diversas fuentes de origen vegetal debido a la necesidad de reducir/eliminar factores antinutricionales.

El remplazo del 30% de la dieta por fuentes vegetales supone un gran ahorro a gran escala, lo que se refleja en dietas rentables para alimentar estos organismos que requieren altos niveles de proteína, sin desmejorar la producción.

Es necesario continuar desarrollando estudios alrededor del *Centropomus viridis*, un importante recurso pesquero del Pacífico poco estudiado y con gran potencial acuícola.

LITERATURA CITADA

1. Aidos, I., Krieb, N., Boonman, M., Luten, J.B., Boom, R.M., Padt, A.V.D. 2003. Influence of Production Process Parameters on Fish Oil Quality in a Pilot Plant. *J. Food Sci.* 68, 581–586.
2. Almeida, R.F., Silva, A.L.N., Pereira, J.A. 1999. Análise comparativa do crescimento do camorim, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792), alimentado com dietas viva e inerte em viveiro estuarino. *Trop. Oceanogr.* 27, 115–127.
3. Álvarez-González, C.A., Gabriela-Cortés, G., Jiménez-Martínez, L.D., Sánchez-Zamora, A., Arena-Ortiz, G., Martínez-Bruguete, T., Tovar-Ramírez, D., Concha-Frías, B., Márquez-Couturier, G., Perales-García, N., others. 2010. Avances en la fisiología digestiva del robalo blanco (*Centropomus undecimalis*) en Tabasco, México. *Proc. Mem. X Av. En Nutr. Acuícola X Simp. Int. Nutr. Acuícola Univ. Autónoma Nuevo Ón Monterrey México* 98–231.
4. Alvarez-Lajonchère, L., Tsuzuki, M.Y. 2008. A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquac. Res.* 39, 684–700.
5. Amador del Ángel, L.E., Luis, E., Cabrera Rodríguez, P., Gómez Mendoza, G.E. 1998. Cultivo del Robalo Blanco, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1729) en estanques rústicos de manto freático en la Isla del Carmen, Campeche, México.
6. AOAC. 1998. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis, 17th ed. Washington.
7. Barbosa, M.C., Neves, F. F., Cerqueira, V.R. 2011. Feeding rate in the performance of juveniles of fat-snook *Centropomus parallelus* in net cage. *Acta Sci. Anim. Sci.* 33, 369–372.

8. Belmar, R. 2001. Importancia de los factores antinutricionales en la alimentación de animales no rumiantes. Presented at the Memorias del X Congreso de Veterinaria., Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia, Yucatán, pp. 34–54.
9. Belmar, R., Nava, R. 2000. Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos [En línea]. Fac. Med. Vet. Zootec. URL http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/encuentros/viii_encuentro/roberto.htm
10. Blewett, D.A., Hensley, R.A., Stevens, P.W. 2006. Feeding habits of common snook, *Centropomus undecimalis*, in Charlotte Harbor, Florida. Gulf Caribb. Res. 18, 1–14.
11. Bobbio, F.O., El-Dash, A.A., Bobbio, P.A., Rodríguez, L.R. 1978. Isolation and characterization of the physicochemical properties of the starch of jackfruit seeds (*Artocarpus heterophyllus*). Cereal Chem. 4, 505–511.
12. Buitrago, J., 1992. Soya integral en la alimentación animal. Átropos 6.
13. Bussing, W.A. 1995. Centropomidae, in: Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E., Niem, V.H. (Eds.), Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. Volumen II. Vertebrados - Parte 1. Roma, pp. 987–995.
14. Calda, V., Blair, M. 2004. Cuantificación de taninos condensados e identificación de QTLs asociados a su acumulación en fríjol común (*Phaseolus vulgaris L.*), in: Memorias de Taninos En La Nutrición de Rumiantes En Colombia. Presented at the Taller sobre taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia, Bogotá, Colombia, p. 43.
15. Calderón de la Barca, A.M., Ochoa, J.L., Valencia, M.E. 1985. Effect of the extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leucocarpus* seeds. J. Food Sci. 50, 1700–1702.

16. Carulla, J., Pabón, M. 2004. Un sistema *in vitro* para evaluar los efectos de los taninos en la degradación de la proteína bajo condiciones ruminales y abomasales, in: Memorias de taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia. Presented at the Taller sobre taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia, Bogotá, Colombia, p. 15.
17. Cheng, Z. J., Hardy, R.W. 2003. Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* 9, 77–87.
18. Cho, C.Y., Slinger, S.J., 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout, in: Halver, J., Tiews, K. (Eds.), *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*. Proc. World Symp., Heenemann, Berlin, pp. 239–247.
19. Cho, C.Y., Slinger, S.J., Bayley, H.S. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Comp. Biochem.* 73, 25–41.
20. Contreras-Sánchez, W.M., Contreras-García, M. J., Mcdonal-Vera, A., Hernández-Vidal, U., Cruz-Rosado, L., Martínez-García, R. 2015. Manual para la producción de robalo blanco (*Centropomus undecimalis*) en cautiverio, 2nd ed. ROVIROSA JOSÉ N. Biodiversidad, desarrollo sustentable y trópico húmedo, México.
21. Córdova-Murueta, J.H., García-Carreño, F.L. 2002. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture* 210, 371–384.
22. Crosa, M.J., Curia, A., Curutchet, A., Cadenazzi, M., Dotta, G., Ferreyra, V., Maidana, F., Souto, L., Escudero, J. 2013. Estudio comparativo de la estabilidad lipídica de harinas de soja, sorgo, avena, salvado y germen de trigo con y sin extrusión. *Rev. Lab. Tecnológico Uruguay* 8, 30–38.
23. De Lange, C., Nyachoti, C., Verstegen, M. 2000. The significance of antinutritional factors in feedstuffs for monogastric animals., in: Moughan, P., Verstegen, M., Visser-Reyneveld, M. (Eds.), *Feed Evaluation Principles and Practice*. Amstelveen, pp. 169–188.

24. De Souza, J.H. De Fracalossi, D.M., Garcia, A.S., Ribeiro, F.F., Tsuzuki, M.Y. 2011. Growth and economic performance of juvenile fat snook fed diets containing different protein levels. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 46, 190–195.
25. Deshpande, S.S., Cheryan, M. 1985. Evaluation of vanillin assay for tannin of dry beans. *J. Food Sci.* 50, 905–910.
26. Drew, M.D., Borgeson, T.L., Thiessen, D.L. 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Anim. Feed Sci. Technol., Nutrition Technologies in Animal Feed Science and Technology* 138, 118–136.
27. Duffus, C., Slaughter, C. 1985. *Las semillas y sus usos*. México: A.G.T.
28. Elizalde, A. D., Porrilla, Y.P., Chaparro, D.C. 2009. Factores antinutricionales en semillas. *Fac. Cienc. Agropecu.* 7, 45–54.
29. FAO, 2018. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. Roma.
30. FAO, 2016. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Roma.
31. FAO, Olvera-Novoa, M.A., Martínez-Palacios, C.A., Real-de León, E. 1993. Análisis proximales, in: *Manual de Técnicas Para Laboratorio de Nutrición de Peces y Crustáceos*. Italia, pp. 3–18.
32. FIRA, 2016. *Panorama Agroalimentario. Frijol 2016, Fideicomiso Instituidos en Relación con la Agricultura*. Dirección de Investigación y Evaluación Económica Sectorial, México.
33. Fraga, I., Reyes, R., Ortega, N., Regueira, E., Font, R., Bravo, A. 2006. Desarrollo de un banco de reproductores de Róbalo (*Centropomus undecimalis*, Bloch 1792): I. Manejo del alimento. *Comunicación Científica*. Presented at CIVA IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. 1: 198-207.

34. Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197–227.
35. Furukawa, H., Tsukuhara, H. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jap. Soc. Sci. fish.* 32, 502–508.
36. García-Galano, T., Pérez, J.C., Gaxiola, G., Sánchez, A. 2003. Effect of feeding frequency on food intake, gastric evacuation and growth in juvenile snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). *Rev Invest Mar* 24, 145–154.
37. Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., J Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac. Res.* 38, 551–579.
38. Glencross, B. 2011. A comparison of the digestibility of diets and ingredients fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) or barramundi (*Lates calcarifer*) – the potential for inference of digestibility values among species. *Aquac. Nutr.* 17, e207–e215.
39. Glencross, B.D., Blyth, D., Tabrett, S., Bourne, N., Irvin, S., Anderson, M., Fox-Smith, T., Smullen, R. 2011. An assessment of cereal grains and other starch sources in diets for barramundi (*Lates calcarifer*) – implications for nutritional and functional qualities of extruded feeds. *Aquac. Nutr.* 18, 388–399.
40. Gracia-López, V., García-Galano, T., Gaxiola-Cortés, G., Pacheco-Campos, J. 2003. Effect of dietary protein level and commercial feeds on growth and feeding of juvenile common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *Cienc. Mar.* 29, 585–594.
41. Grela, E.R. 1996. Nutrient Composition and content of antinutritional factors in spelt (*Triticum spelta* L.) Cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 71, 399–404.

42. Guy, R.C.E. 2016. Extrusion Technologies, in: Wrigley, C., Corke, H., Seetharaman, K., Faubion, J. (Eds.), *Encyclopedia of Food Grains (Second Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 268–273.
43. Hardy, R.W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* 41, 770–776.
44. Hernández, C., González Rodríguez, B., Abdo de la Parra, I., García Rico, L., Martínez Palacio, C. 2008. Método utilizado en el CIAD para medir la digestibilidad *in vivo* en camarón, in: Cruz Suárez, L.E., Villarreal Colmenares, H., Tapia Salazar, M., Nieto López, M.G., Villarrea Cavazos, D.A., Ricque Marie, D. (Eds.), *Manual de metodologías de digestibilidad *in vivo* e *in vitro* para ingredientes y dietas para camarón*. Universidad de Nuevo León, Mty., N.L., México.
45. Hernández, C., Hardy, R.W., Márquez-Martínez, D.G., Domínguez-Jimenez, P.V., González-Rodríguez, B. 2015. Evaluation of apparent digestibility coefficients of individual feed ingredients in spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquac. Nutr.* 21, 835–842.
46. Hernández, P., 2009. Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína carbohidrato [en línea] Universidad Autónoma de México. http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/01/g_21_27_PEDRO_HERNANDEZ%5B1%5D.pdf
47. Hiai, S., Oura, H., Nakajima, T. 1976. Color reaction of some saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Med.* 29, 116–122.
48. Hilton, J.W., Cho, C.Y., Slinger, S.J. 1981. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption, and the physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquac.* 25, 185–194.

49. Iniestra-González, J.J., Ibarra-Pérez, F.J., Gallegos-Infante, J.A., Rocha-Guzmán, N.E., González-Laredo, R.F. 2005. Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia* 39.
50. Isaac, M. de L., Romero, R.J., Ruiz, R., Sánchez, S., 2004. *Bioquímica: estructura de aminoácidos, péptidos y proteínas*, 1st ed. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Xalisco, México.
51. IUCN. 2007. *Centropomus viridis*: Cotto, A., Acero, A., Rojas, P. & van der Heiden, A.: The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T178067A7490754.
52. Kakade, M.L., Rackis, J.J., McGhee, J.E., Puski, G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51, 376–382.
53. Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture, Advanced Biotechnology in Hatchery Production* 200, 181–201.
54. Köprücü, K., Özdemir, Y. 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac* 250, 308–316.
55. Krogdahl, A., Hemre, G.I., Mommsen, T.P. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in post-larval stages. *Aquac. Nutr.* 11, 103–122.
56. Kuo, Y. 2004. Effects of different germination conditions on the contents of free protein and nonprotein amino acids of commercial legumes. *Food Chem.* 86, 537–545.
57. Labastida-Che, A., Núñez-Orozco, A.L., Oviedo-Piamonte, J.A. 2013. Aspectos biológicos del robalo hocicudo *Centropomus viridis*, en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *Cienc. Pesq.* 21, 21–28.
58. Lacaille-Dubois, M., Wagner, H. 1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* 2, 363–386.

59. Lemus, I., Maldonado, C., Cuzon, G., Sanchez, A., Gaxiola, G., Alvarez, A., Guerrero, M., 2017. *In vitro* and *in vivo* feedstuff digestibility for snook, *centropomus undecimalis*, juveniles. J. World Aquac. Soc. n/a-n/a.
60. Lewis-McCrea, L.M., Lall, S.P. 2007. Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the development of skeletal abnormalities in juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquac. 262, 142–155.
61. Lis, H., Sharon, N., 1998. Lectins: carbohydratespecific proteins that mediate cellular recognition. Chem. Rev. 637–674.
62. Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J. 2018. *In vitro* digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. Food Res. Int. 107, 423–436.
63. Madrigal-Aldana, D.L., Tovar-Gómez, B., Mata-Montes de Oca, M., Sagayo-Areydi, S.G., Gutierrez-Meraz, F., Bello-Pérez, L.A. 2011. Isolation and characterization of Mexican jackfruit (*Artocarpus Heterophyllus L*) sedes starch in two mature stages. Starch Starke 63, 364–372.
64. Martín-Cabrejas, M.A., Jaime, L., Karanja, C., Downie, A.J., Parker, M.L., Lopez-Andreu, F.J., Maina, G., Esteban, R.M., Smith, A.C., Waldron, K.W. 1999. Modifications to physicochemical and nutritional properties of hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris l.*) by extrusion cooking. J. Agric. Food Chem. 47, 1174–1182.
65. Maynard, L.A., Loosli, J.K., Hintz, H.F., Warner, R.G. 1981. Animal nutrition. McGraw-Hill Book Company., New York.
66. Mazza, G. 2000. Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado. Acribia 292–307.

67. Milán-Carrillo, J., Reyes-Moreno, C., Camacho-Hernández, I.L., Rouzaud-Sandez, O. 2002. Optimisation of extrusion process to transform hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L) into a useful product. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1718–1728.
68. Muhlia-Melo, A., Arvizu-Martínez, J., Rodríguez-Romero, J., Guerrero-Tortolero, D., Gutiérrez-Almazán, F., Muhlia-Almazán, A., SEPESCA-CIBNOR. 1994. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de robalo. Sec. De pesca. Dirección General de Acuicultura. México.
69. Muzquiz, M. 2006. Factores no-nutritivos en fuentes proteicas de origen vegetal: Su implicación en nutrición y salud [en línea]. *Braz. J. Food Technol.* http://www.ital.sp.gov.br/bj/bj_old/brazilianjournal/ed_especial_b/cor-15.pdf (accesed 5-5-19)
70. Nankervis, L., Southgate, P.C. 2006. An integrated assessment of gross marine protein sources used in formulated microbound diets for barramundi (*Lates calcarifer*) larvae. *Aquac.* 257, 453–464.
71. Nelson, J.S., Crossman, E.J., Espinosa-Pérez, H., Findley, L.T., Gilbert, C.R., Lea, R.N., Williams, J.D. 2004. Common and scientific names of fishes from the United States, Canada and Mexico. American Fisheries Society, Bethesda.
72. Nikmaram, N., Kamani, M.H., Ghalavand, R. 2015. The effects of extrusion cooking on antinutritional factors, chemical properties and contaminating microorganisms of food. *Int. J. Farming Allied Sci.* 4, 352–354.
73. Nikmaram, N., Leong, S.Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F.J., Greiner, R., Oey, I., Roohinejad, S. 2017. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food Control* 79, 62–73.
74. Nollé, L.M.L. 1996. Handbook of food analysis, 2nd ed. Marcel Dekker, New York.

75. Oliveira, R.L.M. de, Santos, L.B.G. dos, Silva Neto, N.G. da, Silva, S.P.A. da, Silva, F. dos S., Melatti, E., Cavalli, R.O. 2019. Feeding rate and feeding frequency affect growth performance of common snook (*Centropomus undecimalis*) juveniles reared in the laboratory. Rev. Bras. Zootec. 48.
76. Oloyo, R.A. 2002. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. Food Chem. 85, 497–502.
77. Ortiz, A.J. 2006. Crecimiento de róbalo (*Centropomus viridis*) alimentados con concentrado, alevines y filete de tilapia en Zamorano, Honduras.
78. Parra, M.Á.L., Navarrete, J.A.Z., 2009. La oxidación lipídica en la cadena de producción acuícola. Rev. Investig. Agrar. Ambient. 1, 13–22.
79. Pastor-Cavada, E., Drago, S.R., González, R.J., Juan, R., Pastor, J.E., Alaiz, M., Vioque, J. 2011. Effects of the addition of wild legumes (*Lathyrus annuus* and *Lathyrus clymenum*) on the physical and nutritional properties of extruded products based on whole corn and brown rice. Food Chem. 128, 961–967.
80. Perera-García, M., Mendoza-Carranza, M., Páramo-Delgadillo, S. 2008. Dinámica reproductiva y poblacional del robalo, *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae), en Barra San Pedro, Centla, México. Univ. Cienc. Tróp. Húmedo 24, 49–59.
81. Polonía-Rivera, C., Gaitán, S., Chaparro-Muñoz, N., Villamizar, N. 2017a. Captura, transporte y aclimatación de juveniles y adultos de róbalo *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). Rev. Intrópica 12.
82. Polonía-Rivera, C., Gaitán, S., Chaparro-Muñoz, N., Villamizar, N. 2017b. Effect of three diets in the experimental culture of the common snook (*Centropomus undecimalis* Bloch, 1792). Rev. MVZ Córdoba 22, 6287–6295.

83. Polonía-Rivera, C., Gaitán, S., Ruiz-Velazco, J., Villamizar, N., Chaparro-Muñoz, N., 2016. Evaluación económica del cultivo de róbalo (*Centropomus undecimalis* B.) en estanque de agua dulce. Agron. Colomb. 34, S44–S47.
84. Reyes, R., Regueira, E., Ortega, N., Bravo, A. 2006. Crecimiento del róbalo común *Centropomus undecimalis* Bloch, en ambiente salobre. Opción para su cultivo en la acuicultura, in: XVII Forum de Ciencia y Técnica Del CIP.
85. Riaz, M.N. 2000. Introduction to extruders and their principles, in: Riaz, M.N. (Ed.), Extruders in Food Applications. Boca Raton: CRC Press, pp. 1–23.
86. Rini, J.M. 1995. Lectin Structure. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 24, 551–577.
87. Rubio, E.A., Loaiza, J.H., Moreno, C.J. 1999. Observaciones sobre el crecimiento de dos especies de robalos (*Centropomus viridis* y *Centropomus armatus*) en jaulas flotantes en zonas estuarinas de la Bahía de Buenaventura.
88. SAGARPA. 2017. Aumenta 14 por ciento producciones de frijol en México (Comunicado No. 176). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Ciudad de México.
89. Salgado, J.D., Valadez, M. del C. 2002. Purificación y caracterización de lectinas de semillas amaranto cultivado en el estado de Hidalgo (Académico). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias de la Salud Ex Hacienda la Concepción, Hidalgo, México.
90. Sánchez-Zamora, A., Rosas, C., Durruty, C., Suárez, J. 2003. Reproducción en cautiverio de robalo: Una necesidad inaplazable en el sureste mexicano. Panor. Acuícola Mag. 7, 24–25.
91. Shimada-Borges, J.C.S., Pressinotti, L.N., Gomes, V., Da Silva, J.R.M.C. 2010. Lipidic and proteic absorption in digestive tract of tropical fat snook (*Centropomus parallelus*, POEY 1860). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 386, 39–44.

92. SIAP, 2017. Jackfruit, jaca, yaca... ¿la conoces? Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
93. Silvão, C.F., Nunes, A.J.P. 2017. Effect of dietary amino acid composition from proteins alternative to fishmeal on the growth of juveniles of the common snook, *Centropomus undecimalis*. Rev. Bras. Zootec. 46, 569–575.
94. Smithard, R. 2002. Secondary plant metabolites in poultry nutrition., in: McNab, J., Boorman, K. (Eds.), Poultry Feedstuffs: Supply, Composition and Nutritive Value. Wallingford Inglaterra : CABI Publishing, pp. 237–278.
95. Tsuzuki, M.Y., Berestina, A.C., 2008. Desempenho de juvenis de robalo-peva *Centropomus parallelus* com diferentes dietas comerciais e frequências alimentares. Bol. Inst. Pesca 34, 535–541.
96. Tucker JR, J.W., 1987. Snook and Tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming progress. Fish-Cult. 49, 49–57.
97. Vaintraub, I.A., Lapteva, N.A. 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. Anal. Biochem. 175, 227–230.
98. Valdez-González, F., Gutiérrez-Dorado, R., García-Ulloa, M., Rodríguez-González, H. 2013. Revisión del efecto de antinutrientes y la fibra de leguminosas en la alimentación para peces. Cienc. Nicolaita 59, 21–40.
99. Van den Hout, R., Pouw, M., Gruppen, H., Van't Riet, K. 1998. Inactivation kinetics study of the kunitz soybean trypsin inhibitor and the Bowman-Birk inhibitor. J. Agric. Food Chem. 46, 281–285.
100. Vandenberg, G.W., Scott, S.L., De la Noüe, J. 2012. Factors affecting nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a plant protein-based diet supplemented with microbial phytase. Aquac. Nutr. 12, 369–379.

101. Walton, M.J. 1987. Metabolismo de proteínas y aminoácidos en peces, in: Espinosa de los Monteros, J., Labarta, U. (Eds.), *Nutrición En Acuicultura*. Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, Madrid, pp. 225–281.
102. Wang, Q., He, G., Mai, K., Xu, W., Zhou, H. 2016. Fishmeal replacement by mixed plant proteins and maggot meal on growth performance, target of rapamycin signalling and metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*). *Aquac. Nutr.* 22, 752–758.
103. Wyatt, C., Triana, A. 1994. Soluble and insoluble Fe, Zn, Ca, and phytates in foods commonly consumed in Northern Mexico. *J. Agric. Food Chem.* 42, 204–209.
104. Zarza Meza, E.A., Berruecos Villalobos, J.M., Vásquez Peláez, C., Álvarez Torres, P. 2006. Cultivo experimental de Robalo *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) y Chucumite *Centropomus parallelus* (Poey, 1860) (Perciformes: Centropomidae) en agua dulce en un estanque de concreto en Alvarado, Veracruz, México. *Vet. México* 37.
105. Zhou, J.S., Chen, Y.S., Ji, H., Yu, E.M. 2016. The effect of replacing fish meal with fermented meal mixture of silkworm pupae, rapeseed and wheat aon growth, body composition and health of mirror carp (Ciprynus carpio var. Specularis). *Aquac. Nutr.* 1–14.