

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

ELABORACIÓN DE UNA DIETA PARA TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) CON INCLUSIÓN DE SUBPRODUCTO DE AGUACATE



Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Biológico Agropecuarias en el área de Ciencias Agrícolas

PRESENTA

GABRIELA POLETH HERNÁNDEZ ORTEGA

DIRECTOR

DR. EDGAR IVÁN JIMÉNEZ RUÍZ

CODIRECTOR

DR. JAVIER GERMÁN RODRÍGUEZ CARPENA

TEPIC, NAYARIT, JUNIO 2017

Tepic, Nayarit a 13 de junio, 2017

Asunto: Liberación de tesis de la IBQ Gabriela Poleth Hernández Ortega

Dr. Juan Diego García Paredes
Coordinador del Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias
Universidad Autónoma de Nayarit
PRESENTE

Los que suscribimos, integrantes del comité tutorial de la IBQ Gabriela Poleth Hernández Ortega, declaramos que hemos revisado la tesis titulada "Elaboración de una dieta para tilapia (*Oreochromis niloticus*) con inclusión de subproducto de aguacate", por lo que otorgamos nuestra aprobación para continuar con los trámites correspondientes para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológico Agropecuarias, Área de Ciencias Agrícolas.

Comité Tutorial



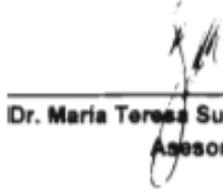
Dr. Edgar Iván Jiménez Ruiz

Director



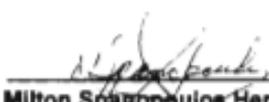
Dra. Javier Germán Rodríguez Carpena

Co-director



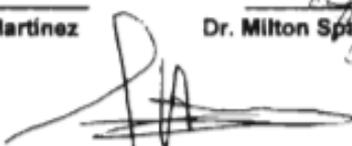
Dr. María Teresa Sumaya Martínez

Asesor



Dr. Milton Spanopoulos Hernández

Asesor



Dr. Alfonso Nivardo Maeda Martínez

Asesor



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

CBAP/089/17.

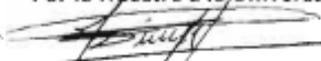
Xalisco, Nayarit; 19 de junio de 2017.

M.C. JOSE ERNESTO VILLANUEVA TREJO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.

Con base al oficio de fecha 13 de junio de 2017, enviado por los CC. Dr. Edgar Iván Jiménez Ruíz, Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena, Dra. María Teresa Sumaya Martínez, Dr. Milton Spanopoulos Hernández y Dr. Alfonso Nivardo Maeda Martínez, 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. Gabriela Poletth Hernández Ortega**, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias en el Área de Ciencias Agrícolas.

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

&mfem

DEDICATORIA

A mi madre

Julia Angélica Ortega Valdez
que es mi fortaleza e inspiración diaria.

A mi padre

Jorge Armando Hernández Muñoz
que es mi ejemplo de constancia y dedicación.

A mis hermanos

Jorge Armando, Paulina Elizabeth y Ana Jossie
por ser mi alegría de todos los días.

AGRADECIMIENTOS

Debo agradecer de manera especial y sincera a mi director de tesis, el Dr. Edgar Iván Jiménez Ruiz, por inculcar en mi un sentido de responsabilidad y rigor académico como parte de mi formación como investigadora. Gracias por la confianza al brindarme este proyecto, por toda su paciencia invertida y por haber contado siempre con su apoyo. Él tiene mi lealtad y admiración.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena por su importante aporte y participación durante el desarrollo de esta tesis.

Agradezco a mi comité tutorial: Dra. María Teresa Sumaya Martínez, Dr. Milton Spanopoulos Hernández y Dr. Alfonso Nivardo Maeda Martínez por compartir sus conocimientos y apoyarme a lo largo de este periodo de investigación.

Agradezco a:

Oscar Fregoso

Elena Luna

Sarahy Navidad

Gladys A. Toledo

MC. Apatzingan Palomino

MC. Mónica Martínez

Nancy Ruelas

Victoria Félix

Victor, Antonio y Jorge

Por brindarme su amistad, apoyo, tiempo y comprensión durante largas jornadas de trabajo y en todas situaciones.

Muchas gracias

ÍNDICE

Contraportada	I.
Oficio de conformidad del comité tutorial	II.
Oficio de aprobación.....	III.
Dedicatoria	IV.
Agradecimientos.....	V.
Índice.....	VI.
Lista de tablas	X.
Lista de figuras.....	XI.
Resumen.....	XII.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Hipótesis.....	2
1.2. Objetivo general	2
1.2.1. Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Acuicultura.....	3
2.1.1. Situación actual de la acuicultura.....	3
2.1.2. La acuicultura en México	4
2.2. Especie de estudio: tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	6
2.2.1. Taxonomía	6
2.2.3. Morfología interna.....	7
2.2.4. Ciclo de vida.....	10
2.2.5. Caracteres sexuales.....	10
2.2.6. Hábitat.....	14
2.2.7 Hábitos alimenticios.....	14
2.3. Requerimientos nutricionales de organismos acuáticos.....	15

2.3.1. Requerimiento de energía	15
2.3.2. Requerimiento de proteína	16
2.3.3. Requerimiento de lípidos	18
2.3.4. Requerimiento de carbohidratos	19
2.3.5. Requerimiento de vitaminas	21
2.3.6. Requerimiento de minerales	22
2.4. Alimento acuícola	22
2.4.1. Formulación y fabricación de las dietas	23
2.5. Materia prima	24
2.5.1. Alternativas de insumos	25
2.5.2. Uso de antioxidantes en la acuicultura	26
2.5.3. Innovación de fuentes de antioxidantes	27
2.6. Aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.)	28
2.6.1. Calidad nutricional	31
2.6.2. Actividad antioxidante	33
2.6.3. Subproductos de aguacate	33
2.6.4. Aguacate como insumo en alimento animal	34
III. JUSTIFICACIÓN	36
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.1. Elaboración de pasta de aguacate	37
4.2. Análisis proximal de las materias primas	37
4.2.1. Humedad	37
4.2.2. Lípidos	39
4.2.3. Proteína	39
4.2.4. Cenizas	41
4.3. Formulación de dietas experimentales	43
4.4. Elaboración de las dietas experimentales	43
4.4.1. Dieta base (DB)	43
4.4.2. Dietas con inclusión de pasta de aguacate (D10, D20 y D30)	44

4.4.3. Peletización	44
4.5. Análisis proximal de las dietas experimentales	44
4.5.1. Fibra cruda	44
4.6. Actividad antioxidante.....	47
4.6.1. Extracción etanólica.....	47
4.6.2. Actividad anti-radical. Atrapamiento del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH•).....	47
4.6.3. Atrapamiento del catión ácido-1,1'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS•+).....	49
4.6.4. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a ion Fe (II) (Método FRAP).....	49
4.6.5. Determinación de compuestos fenólicos totales	50
4.7. Determinación de compuestos bioactivos.....	50
4.7.1. Análisis de tocoferoles.....	50
4.7.2. Análisis de carotenoides.....	51
4.7.3. Cuantificación de ácido ascórbico.....	51
4.8. Determinación del perfil de ácidos grasos	52
4.8.1. Extracción de lípidos por el método Folch	52
4.8.2. Metilación de ácidos grasos.....	52
4.9. Perfiles de aminoácidos.....	53
4.10. Puntaje químico de aminoácidos	53
4.11. Análisis de resultados.....	55
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
5.1. Composición químico-proximal de los insumos	56
5.2. Formulación de las dietas experimentales	56
5.3. Composición químico-proximal de las dietas experimentales	56
5.4. Actividad antioxidante de las dietas y la pasta de aguacate	60
5.4.1. Actividad anti-radical 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH•)	60
5.4.2. Atrapamiento del catión ácido-1,1'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS•+).....	63
5.5. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a ion Fe (II) (Método FRAP).....	63

5.6. Determinación de compuestos bioactivos.....	66
5.6.1. Análisis de compuestos fenólicos totales.....	66
5.6.2. Concentración de tocoferoles.....	68
5.6.3. Concentración de carotenoides.....	72
5.6.4. Concentración de ácido ascórbico.....	75
5.7. Extracción de lípidos por el método Folch.....	77
5.8. Determinación del perfil de ácidos grasos.....	79
5.8.1 Perfil de ácidos grasos de la pasta de aguacate.....	79
5.8.2. Perfil de ácidos grasos en dietas experimentales.....	79
5.9. Determinación del perfil de aminoácidos de las dietas.....	82
5.10. Puntaje químico (PQ).....	84
VI. CONCLUSIONES.....	87
VII. REFERENCIAS.....	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Principales entidades productoras de tilapia en México.....	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la tilapia.....	8
Tabla 3. Talla y peso de la tilapia de Nilo en sus diferentes estadios.....	12
Tabla 4. Requerimientos de aminoácidos esenciales (% de proteína) en <i>Oreochromis niloticus</i>	17
Tabla 5. Volumen de producción de las principales entidades federativas de México.....	30
Tabla 6. Composición proximal de los insumos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales en base húmeda (%).	57
Tabla 7. Formulación de la dieta base (DB) y dietas con inclusión de pasta de aguacate al 10, 20, 30% (D10, D20 y D30)	58
Tabla 8. Composición proximal de las distintas dietas experimentales (%).	59
Tabla 9. Composición lipídica de las dietas experimentales (%).	78
Tabla 10. Perfil de ácidos grasos de las dietas.....	80
Tabla 11. Resumen de ácidos grasos de las dietas.....	81
Tabla 12. Perfil de aminoácidos en la pasta de aguacate y dietas experimentales.....	82
Tabla 13. Puntaje químico de los aminoácidos esenciales en las dietas.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfología externa de la tilapia.....	9
Figura 2. Morfología interna de la tilapia.....	11
Figura 3. Genitales de tilapia.....	13
Figura 4. Ruta de biosíntesis de ácidos grasos en peces (Tocher <i>et al.</i> , 2002).	20
Figura 5. Árboles de aguacate <i>Persea americana</i> Mill. con frutos.....	29
Figura 6. A) Imagen representativa del aguacate "Hass"; B) Etapas de maduración del aguacate después de su cosecha.....	32
Figura 7. Proceso de elaboración de pasta de aguacate (eliminación de semilla).....	38
Figura 8. Extracción de lípidos. A) Equipo soxhlet; B) Equipo de rotaevaporación.....	40
Figura 9. Equipo de destilación de micro-kjeldahl.....	42
Figura 10. A) Pelets en charolas; B) Deshidratación de las dietas; C) Pelets de la dieta base.....	45
Figura 11. A) Equipo digestor de fibra; B) Filtración; C) Cenizas.....	46
Figura 12. Extractos etanólicos; A) Pasta de aguacate; B) Dieta comercial.....	48
Figura 13. A) Embudos de decantación con la muestra de las dietas experimentales; B) Matraces con grasa y cloroformo.....	54
Figura 14. Capacidad de atrapamiento del radical DPPH.....	62
Figura 15. Capacidad de atrapamiento del radical ABTS.....	64
Figura 16. Capacidad de reducción del ión Fe (III) al ión Fe (II).....	65
Figura 17. Concentración de compuestos fenólicos.....	67
Figura 18. Concentración de α -tocoferol.....	69
Figura 19. Concentración de γ - tocoferol.....	70
Figura 20. Concentración de δ -tocoferol.....	71
Figura 21. Concentración de β -caroteno.....	73
Figura 22. Concentración de zeaxantina.....	74
Figura 23. Concentración de ácido ascórbico.....	76

RESUMEN

En México, una de las principales especies acuícolas producidas es la tilapia, debido a su fácil cultivo y resistencia a enfermedades, entre otras cualidades. No obstante, la acuicultura aún presenta retos por superar, por ejemplo los altos costos de producción por alimentación, el uso de antioxidantes sintéticos y las condiciones adversas que se presentan durante el cultivo provocando un estrés oxidativo. Por esto, en el presente estudio se analizó el efecto de la inclusión de subproducto de aguacate sobre la actividad antioxidante, concentración de compuestos bioactivos, la calidad proteica, además del perfil de ácidos grasos y aminoácidos en una dieta diseñada para tilapia. Como primera etapa, se formularon y elaboraron 4 dietas: 3 con inclusión de pasta de aguacate a niveles de 10, 20 y 30% y una dieta de referencia (0%). Todas las dietas fueron formuladas con respecto a los niveles proteína (35%) y lípidos (8-10%) para tilapia juvenil. De acuerdo a los resultados obtenidos, las dietas con inclusión de pasta de aguacate cumplieron con el requerimiento proteico y lipídico de la especie; además, los niveles de fibra cruda no sobrepasaron lo establecido. Se observó un aumento estadístico significativo ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante y todos los compuestos bioactivos de las dietas experimentales conforme se incrementó la inclusión de pasta de aguacate en la formulación de las dietas. De igual manera, dependiendo del aumento en el nivel de inclusión de subproducto de aguacate, las dietas formuladas disminuyeron su contenido de ácidos grasos saturados y aumentaron los omega 6 y omega 9, los cuales son beneficiosos, ya que a partir de estos se sintetizan ácidos grasos como EPA, DHA y ácido araquidónico con funciones fisiológicas importantes para el metabolismo de la especie. En cuanto a aminoácidos esenciales, es importante remarcar que las dietas con inclusión de la pasta de aguacate cubren en su totalidad todos los requerimientos establecidos para la especie, con excepción de la metionina, la cual presentó un puntaje químico por debajo de 1. Aún así, se considera un valor aceptable para este índice de calidad proteica en dicho aminoácido. Con todo lo anterior y a pesar de ser necesario una serie de análisis de las dietas formuladas con inclusión de pasta de aguacate, como pueden ser aceptabilidad, digestibilidad y bioensayos con organismos vivos, se puede inferir su potencial uso como insumo en dietas acuícolas hasta un nivel de 30% de inclusión en la dieta.

I. INTRODUCCIÓN

La tilapia (*Oreochromis niloticus*) es un pez originario de África y se considera el segundo grupo de peces más producidos por la acuicultura mundial. En México, fueron introducidas por primera vez en 1964 en el centro acuícola de Temascal, en el estado de Oaxaca, de donde se distribuyeron al resto del país (Urcelay, 2012). A partir de tal fecha y hasta el año 2013, México se ha posicionado en el quinto lugar en producción pesquera con una tasa media anual de crecimiento de 1.44%. Durante los últimos años se ha reportado un crecimiento mayor en el sector acuícola con respecto al sector pesquero (CONAPESCA, 2013). En el año 2014, la acuicultura reportó un crecimiento en la producción del 32.2%, donde una de las mayores especies producidas fue la tilapia con más de 128,000 t en peso vivo, de las cuales, 8,000 t correspondieron al estado de Nayarit (CONAPESCA, 2015). El incremento en el cultivo de la especie tilapia se debe a su alta adaptabilidad a diferentes condiciones del medio, el cual es favorecido por su fácil reproducción, es resistente a enfermedades, su productividad es alta y se ha comprobado que aceptan una amplia variedad de alimentos (Urcelay, 2012).

En México también sobresale la producción agropecuaria, como la del aguacate (*Persea americana* Mill.), siendo la variedad "Hass" el más popular en el mercado internacional. Actualmente, México es el primer productor mundial con un reporte de más de 1'500,000 t, en donde Nayarit se posiciona en el cuarto lugar a nivel nacional, con una producción de 36,000 t (SAGARPA-SIAP, 2015). Además de la presentación en fresco, el aguacate se industrializa y convierte en otros productos, en donde los principales son el guacamole y el aceite para propósitos industriales, culinarios, medicinales y cosméticos. Se ha estimado en términos conservadores que más del 10% de la producción de aguacate producida en el país podría utilizarse para alimentar distintos tipos de especies animales, o bien, como insumos en la elaboración de dietas para los mismos (Avilés-Ríos *et al.*, 2009). Este interés es debido a su contenido nutricional de alta calidad y de su concentración de compuestos bioactivos, como son los ácidos grasos esenciales, considerados indispensables para la estructura celular y la respuesta inflamatoria, además ayudan a la sanación de heridas y a la retención de minerales (Lunn y Theobald, 2006). De acuerdo con la California Avocado Commission (CAC), éste contiene una significativa

cantidad de potasio y provee de vitaminas B₆ y C, ácido fólico y cobre (Bautista y Ortega, 2002). El aguacate puede ser considerado un alimento funcional, pues además de ser una fuente natural de energía y lípidos, presenta un alto poder antioxidante en sus tejidos, debido a su elevado contenido en carotenoides y compuestos fenólicos. Es por esto que se han considerado notables aplicaciones de uso tecnológico en para el aguacate, así como aditivo natural y promotor de alimentos sanos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Con base en lo anterior, en el presente estudio se llevó a cabo la inclusión de subproducto de aguacate en un alimento diseñado para tilapia, esto con el fin de aprovechar los tejidos del fruto como fuente de energía, nutrientes y antioxidantes naturales que pudieran a su vez promover su sanidad y correcto crecimiento.

1.1. Hipótesis

La inclusión de subproducto de aguacate en una dieta diseñada para tilapia promoverá la actividad antioxidante y su calidad nutricional debido al aporte de compuestos bioactivos, aminoácidos y ácidos grasos esenciales.

1.2. Objetivo general

Formular, desarrollar y analizar una dieta diseñada para tilapia (*Oreochromis niloticus*) con la inclusión de subproducto de aguacate a diferentes niveles.

1.2.1. Objetivos específicos

- Elaborar cuatro dietas para tilapia con distintos porcentajes de inclusión de pasta de aguacate (0, 10, 20, 30).
- Evaluar la capacidad antioxidante de las dietas experimentales y la pasta de aguacate.
- Analizar el contenido de compuestos antioxidantes: compuestos fenólicos totales, carotenoides, tocoferoles y ácido ascórbico en las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate.
- Determinar el perfil y concentración de ácidos grasos en las distintas dietas.
- Determinar el perfil y concentración de aminoácidos en las dietas y su puntaje químico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Acuicultura

La acuicultura se define como el cultivo de organismos acuáticos mediante la aplicación de técnicas, conocimientos y cuidados que aseguren la sobrevivencia y desarrollo de la especie en cualquiera de sus etapas, ya sea en aguas dulces, salobres o saladas (FAO, 2000). Cabe señalar que hace más de 1000 años a.c. se documentaron formas de producción como el cultivo de carpa en China y de tilapia en Egipto. Sin embargo, fue a partir de 1950 que debido a la innovación e investigación de técnicas de cultivo, la acuicultura evolucionó hacia la producción industrial, convirtiéndose en una actividad de importancia mundial en un contexto económico y nutricional (FAO, 2014; Pallares *et al.*, 2012).

2.1.1. Situación actual de la acuicultura

Actualmente, uno de los mayores desafíos mundiales es el satisfacer la demanda alimenticia bajo situaciones de cambio climático, incertidumbre económica y aumento de la competencia por los recursos naturales. Por dichas razones, la acuicultura ha sido elegida por estados miembros de las naciones unidas para fijar objetivos relativos a favor de la seguridad alimenticia y la nutrición. Lo antes mencionado se sustenta en el crecimiento exponencial de la producción acuícola en los últimos años de especies como: peces de escama, moluscos, crustáceos y plantas. En este sentido, según reportes de la Organización de las Naciones unidas para la alimentación (FAO), en el año 2014 la contribución acuícola total alcanzó el 44% (78.3 millones de t) de la producción total en el mundo de mariscos y plantas acuáticas. Debido a esto, la tasa promedio anual de crecimiento en el periodo 2005-2014 ha sido del 5.8%, superando la tasa de crecimiento demográfico e incrementando la producción acuícola *per capita* en la mayoría de las regiones. En general, todos los continentes productores han mostrado una tendencia al aumento del porcentaje en la producción acuícola. Entre los países de este grupo se cuentan diez importantes productores: China (45.5 millones de toneladas), India (4.9 millones de toneladas), Indonesia (4.2 millones de toneladas), Vietnam (3.4 millones de

toneladas) y Bangladesh (2 millones de toneladas), seguidos por Noruega, Chile, Egipto y Tailandia.

Por otra parte, el pescado y otros productos pesqueros ahora representan uno de los segmentos más comercializados del sector alimentario mundial, tan solo en el año 2014 la producción total acuícola tuvo un valor de venta estimado en 160,200 millones de USD. Al mismo tiempo, el comercio pesquero de origen acuícola ha generado los suficientes empleos para aumentar del 17% en 1990 a un 33% en 2014, en comparación con el sector pesca, en donde las personas dedicadas a dicha actividad han disminuido (FAO, 2016).

2.1.2. La acuicultura en México

Tanto en México como en el mundo, la acuicultura es considerada una de las actividades con mayor potencial y desarrollo ante la problemática económica, los cambios climáticos y el crecimiento demográfico (Álvarez *et al.*, 2012). Así mismo, el país enfrenta problemas de desnutrición y obesidad, los cuales pueden ser parcialmente compensados a través de un incremento sustancial en el consumo de pescados y mariscos, cuyo valor nutricional se relaciona principalmente con su cantidad y calidad de proteínas y lípidos (OCDE, 2012).

Ante la relevancia que ha adquirido la producción acuícola, se ha impulsado la creación de nuevas tecnologías para el desarrollo sustentable de dicho sector. Hoy en día, México cuenta con 120,000 ha destinadas para la acuicultura, 695 granjas y 15 centros acuícolas. Estas presentan características para mejorar y generar la producción de semilla y proporcionar capacitación técnica (SAGARPA, 2016; SIAP, 2016; SIAP, 2015). Por ende, del año 2012-2015 se incrementó en 3.1 kg el consumo *per cápita* anual de pescado y mariscos, de hecho, México se ubica en el 12° lugar como productor acuícola con una producción de 361,000 t (SIAP, 2016). Entre las principales especies cultivadas con respecto al año 2014 se encuentra la tilapia, camarón y el ostión. Es importante mencionar que la tilapia se posiciona en el primer lugar de las especies más producidas en México, con un total de 121,529 t en peso vivo (SIAP, 2015). Por consiguiente, del año 2014-2015 la producción de tilapia aumentó aproximadamente 5%, situando a México en 9° lugar como productor mundial, con alrededor de 128,866 t producidas. En la Tabla 1 se presentan los Estados con mayor producción de tilapia, donde los principales son Jalisco, Chiapas, Sinaloa, Nayarit, Michoacán y Veracruz, que en conjunto aportan el 77% de la

Tabla 1. Principales entidades productoras de tilapia en México

Rango	Entidad federativa	Volumen (toneladas)	Variación (%) 2014-2015
	Total nacional	135,129	4.9
1	Jalisco	32,039	19.8
2	Chiapas	29,136	21.7
3	Sinaloa	12,178	9.6
4	Nayarit	10,178	12.5
5	Michoacán	10,319	-33.8
6	Veracruz	9,967	-25.6
7	Tabasco	5,267	29.1
8	Guerrero	3,929	25.4
9	Hidalgo	2,866	4.6
10	México	2,581	33.0
	Resto	16,137	-3.1

(SIAP, 2016)

producción nacional (SIAP, 2016). De acuerdo a estudios realizados en diferentes regiones de México, el cultivo de tilapia se exhibe como una alternativa potencial para seguir manteniendo la demanda *per capita* con la producción de alimentos de alta calidad, ayudando a la disminución de la presión sobre los recursos naturales e impulsando la generación de empleos (Reyes, 2012).

2.2. Especie de estudio: tilapia (*Oreochromis niloticus*)

La tilapia del Nilo, también conocida como tilapia plateada, es un pez teleosteo de origen africano, perteneciente a la familia *Cichlidae* (Reyes, 2012). Antiguamente, la tilapia solo se producía y comercializaba en África y algunas regiones de Asia, hasta alcanzar su popularidad a nivel mundial. En el año 1979, se introdujeron a México los primeros ejemplares de tilapia nilótica procedentes de Panamá al Centro Acuícola de Temazcal, Oaxaca. En 1987 se adaptó a diferentes embalses y presas localizadas principalmente en Chiapas, Oaxaca y Tabasco. La tilapia en comparación con otros peces, posee cualidades ventajosas para su cultivo y producción, como: crecimiento acelerado, tolerancia a altas densidades, adaptación a cautiverio, aceptación de una amplia gama de alimentos y alta resistencia a enfermedades. Además, se obtiene un filete de buena calidad, buen sabor, pocas espinas, una talla considerable y precio accesible que le confiere una preferencia y demanda comercial en la acuicultura mundial (Castro *et al.*, 2004).

2.2.1. Taxonomía

La clasificación de los Cíclidos, especialmente de la tilapia es confusa entre los científicos y es objeto de constantes modificaciones. Una característica de los géneros que integran el grupo de las tilapias es ornamento reproductivo, referido al tipo de cuidado que la especie brinda a sus crías. En los géneros *Sarotherodon*, los padres son incubadores bucales, que por el contrario de las que pertenecen al género *Oreochromis*, las hembras realizan la incubación. Se han reconocido alrededor de 70 especies dentro de estos dos géneros, aunque en la acuicultura se utilizan generalmente dos especies de tilapia (*rendalli* y *zilli*) y tres especies de *Oreochromis* (*mossambicus*, *aureus* y *niloticus*) (Toledo-Pérez y García-Capote 2000; Lovell, 1998). Según la clasificación de Berg y la

modificación de Trewavas en 1983, la tilapia se clasifica científicamente como se presenta en la Tabla 2.

2.2.2. *Morfología externa*

La tilapia *O. niloticus* presenta en la aleta caudal franjas negras delgadas y en aleta dorsal un margen superior negro o gris (oscura). La forma del cuerpo suele ser comprimida lateralmente con forma ovalada y profunda, aunque puede variar en función del medio ambiente. Tiene orificios nasales, los cuales están ubicados arriba de la boca, es protráctil con mandíbula ancha, a menudo bordeada por labios gruesos con dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Además, presenta aletas impares y pares para su locomoción, estas últimas las constituyen las aletas pectorales, mientras que las impares están constituidas por la aleta dorsal, caudal y anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de cresta, tal como se muestra en la Figura 1 (Morales, 1974).

2.2.3. *Morfología interna*

Anatómicamente, los peces en vida de larvas presentan fuertes cambios durante periodos específicos, que se correlacionan con el tipo de nutrición y alimentación de la especie. El intestino en larvas de tilapia se inicia como un tubo recto que después de 3 días de haber eclosionado desarrolla curvas y sacos (Halver, 1989). La tilapia cuenta con un sistema digestivo el cual inicia en la boca, donde presenta dientes pequeños que pueden tener de 1 a 3 picos, organizándose desde 1 a 5 hileras. En seguida, se encuentra la faringe que prepara el alimento para su digestión, cumpliendo las funciones de prensado y mezclado, causando el aumento de la superficie de área para la acción de fluidos intestinales, los cuales están a un pH menor a 2, necesario para el rompimiento de las membranas celulares. Después se encuentra el esófago corto de diámetro pequeño, que es muy elástico y dispone de células secretoras de una sustancia mucilaginoso, cuya función es favorecer el avance del bolo alimenticio hacia el estómago (Morales, 1991). El estómago desarrollado de la tilapia presenta esfínter pilórico, el cual realiza procesos de digestión ácida (ácido clorhídrico). Particularmente en la tilapia, el estómago alcanza valores bajos

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la tilapia

Reino	Animal
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Clase	Actinopterygii
Orden	Perciforme
Familia	Cichlidae
Género	Oreochromis
Especie	Niloticus

(Trewavas, 1983)

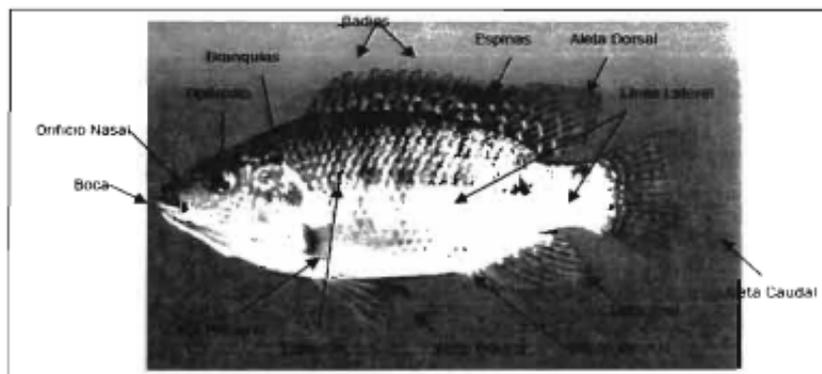


Figura 1. Morfología externa de la tilapia.

de pH, desde 1.25 e incluso 1.0. La pared celular de algunas bacterias también son lisadas mediante este mecanismo, algunas algas pasan del esófago directamente al esfínter pilórico, con exposición a valores de pH más altos (2.0). La acidez gástrica llega a descomponer incluso minerales, proteínas y carbohidratos (Bowen, 1982). Finalmente, el intestino puede medir hasta 7 veces el largo de la especie, recibiendo un ducto biliar común, requerido para la digestión enzimática, donde el pH aumenta progresivamente desde 5.5 a la salida del estómago (Trewavas, 1983). En general, se ha establecido que los herbívoros poseen un intestino más largo que los omnívoros y estos a su vez más largos que los carnívoros. Un intestino largo facilita la digestión de material vegetal, mientras que el corto facilita la acción enzimática en los estómagos (Choat, 2002). La tilapia cuenta también con glándulas muy importantes asociadas con el tracto digestivo tales como: hígado, páncreas y vesícula biliar, esta última facilita el desdoblamiento de los alimentos. Así mismo, el hígado se divide en lóbulos que se relacionan con el intestino (Figura 2) (Torres *et al.*, 2010). En cuanto al sistema circulatorio, este es impulsado por un corazón, generalmente bilobular y de forma redonda, compuesto por tejido muscular y localizado casi en la base de la garganta. La respiración es branquial y también posee una vejiga natatoria que se localiza bajo la columna dorsal, la cual tiene forma de bolsa alargada y funciona como un órgano hidrostático (Arredondo *et al.*, 1994).

2.2.4. Ciclo de vida

El ciclo biológico comienza a partir del apareamiento de los reproductores, donde la hembra deposita los huevos en el nido que el macho ha construido con su boca. El macho fecunda los huevos arrojando el esperma por encima de estos, luego de éste proceso, la hembra toma los huevecillos en su boca, donde quedan adheridos en su mucosa bucal para ser incubados. Después que el huevo eclosiona, el pez atraviesa por las distintas etapas de crecimiento, que son: alevín, cría juvenil y adulto. Las características de cada estadio se describen en la Tabla 3 (Cantor, 2007; Arredondo *et al.*, 1994).

2.2.5. Caracteres sexuales

Existe una diferenciación externa entre ambos sexos de la especie, de acuerdo a la Figura 3, estos se basan principalmente en los orificios ubicados en el vientre bajo. En el caso de

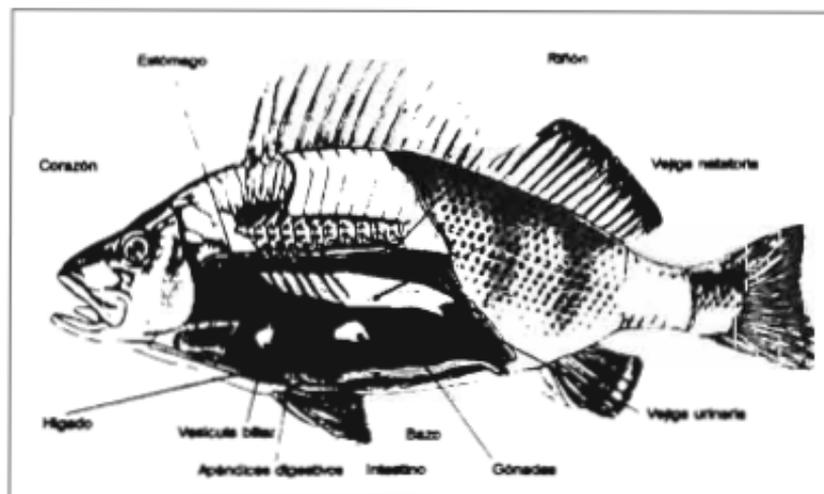


Figura 2. Morfología interna de la tilapia.

Tabla 3. Talla y peso de la tilapia de Nilo en sus diferentes estadios.

Estadio	Talla (cm)	Masa (g)	Tiempo en días
Huevo	0.2 - 0.3	0.01	3 - 5
Alevin	0.7 - 1.0	0.10 - 0.12	10 - 15
Cria	3 - 5	.5 - 4.7	15 - 30
Juvenil	7 - 12	10 - 50	45 - 60
Adulto	10 - 18	70 - 100	70 - 90

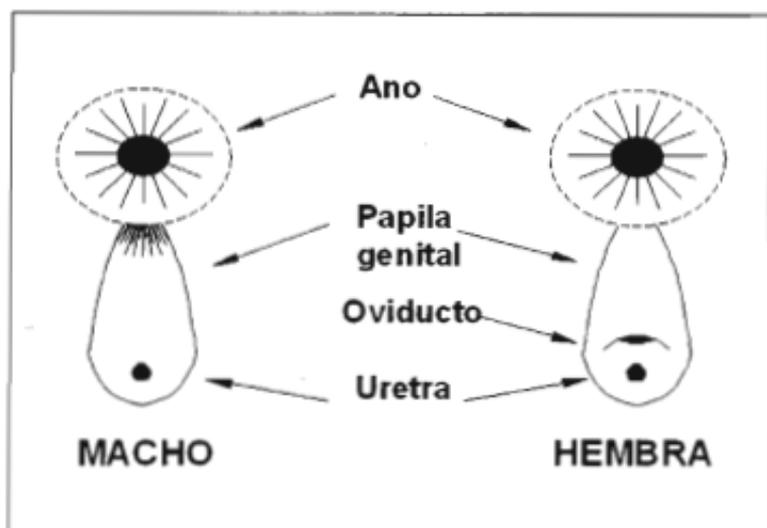


Figura 3. Genitales de tilapia.

los machos, la papila genital presenta un solo orificio que es la uretra, mientras que las hembras presentan dos orificios: la uretra y una ranura horizontal denominada oviducto genital (Morales, 1991).

2.2.6. Hábitat

Las tilapias habitan en aguas de zonas tropicales y subtropicales, se les encuentra principalmente en aguas lénticas como lagos, lagunas y presas, también en aguas lóxicas a orillas de ríos, entre piedras y plantas acuáticas (Morales, 1991). Esto debido a que es tolerante a las altas temperaturas, bajas concentraciones de oxígeno y altos niveles de amoníaco, resistiendo además las altas salinidades. Los peces son animales poiquiloterms (su temperatura corporal depende de la temperatura del medio) y altamente termófilos (dependientes y sensibles a los cambios de la temperatura). El intervalo óptimo de temperatura para el cultivo de tilapias fluctúa entre 28 °C y 32 °C, aunque puede continuarse con una variación de hasta 5 °C por debajo de estos valores. La tilapia es capaz de sobrevivir a niveles bajos de oxígeno disuelto (1.0 mg/L), sin embargo, esto provoca un efecto de estrés, siendo la principal causa de origen de infecciones patológicas. Los valores óptimos de oxígeno disuelto en el hábitat deberían estar por encima de los 4 mg/L (Cantor, 2007).

Por otro lado, el pH del agua que requieren la gran mayoría de los organismos acuáticos es de 7, es decir, aguas neutras. Para la tilapia, el intervalo normal se encuentra entre 6.5 y 9.0, ya que esto permite la secreción normal de mucus en la piel. Así como el pH, también encontramos al amonio, producto que se genera de la excreción y orina de los peces, debido a la descomposición de la materia (degradación de la materia vegetal y de las proteínas del alimento no consumido). Los valores de amonio deben fluctuar entre 0.01 a 0.1 mg/L (valores cercanos a 2 mg/L son críticos). Este último parámetro es tóxico y depende del pH y de la temperatura del agua (Poot *et al.*, 2009).

2.2.7 Hábitos alimenticios

La mayoría de las especies de tilapia son omnívoras con alimentación predominante a herbívora, sus requerimientos nutricionales y tipo de alimento varían según el estadio del pez. Durante la fase de cría presentan preferencias fitoplantófagas, insectos y vegetales

acuáticos, los juveniles pueden alimentarse tanto de fitoplancton, zooplancton, así como de pequeños crustáceos y los adultos por su parte, consumen plancton, algas filamentosas, algunas plantas superiores y detritus vegetal (Morales, 1991; Bowen, 1982). Cabe resaltar que los hábitos alimenticios (dieta carnívora u omnívora) pueden cambiarse acorde a las necesidades del cultivo y con ello la variación de longitud del intestino (Wagner *et al.*, 2009). Así mismo, debido a la facilidad de adaptación de la especie, esta puede aceptar una alimentación suplementaria, la cual utiliza alimentos a base de subproductos agrícolas o alimento balanceado, siendo este último el más utilizado para su cultivo (Torres *et al.*, 2012; Tacon, 1989).

2.3. Requerimientos nutricionales de organismos acuáticos

Los organismos acuáticos requieren nutrientes esenciales para garantizar su crecimiento, salud y su reproducción. Por tal motivo, el estudio del aporte y aprovechamiento dichos nutrientes en su alimentación es pieza clave para el desarrollo de la acuicultura a nivel mundial, por lo que la mayoría de la información disponible se deriva de ensayos conducidos en laboratorio, en donde los animales son alimentados y mantenidos en condiciones controladas, sin acceso a algún alimento natural (Tacon, 1989). Se ha establecido de manera general que los peces necesitan energía y nutrientes esenciales que incluyen aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas y minerales (Llanes, 2006).

2.3.1. Requerimiento de energía

La energía no se clasifica como un nutriente, puesto que es el resultado de los procesos metabólicos a los que se someten cada uno de los nutrimentos ingeridos hasta ser oxidados completamente, esto libera calor por combustión, generando una fuente potencial de energía (Bureau y Cho, 1996; Tacon, 1989). El valor bruto de energía del alimento depende de su composición química, donde los valores promedios de calor por combustión de carbohidratos, proteína y lípidos oscilan en 4.10, 5.63 y 9.43 calorías, respectivamente (Brafield y Llewellyn, 1982). Los peces han adaptado su metabolismo de acuerdo a su dieta rica en proteínas que obtienen del medio donde se desarrollan, de tal modo que la fuente preferencial para la obtención de energía son las proteínas y no los glúcidos. Así mismo, son más eficientes en el uso de la energía que los animales

terrestres, debido a que no gastan energía para regular la temperatura corporal ya que son poiquilotermos, en contraste con los animales de sangre caliente homeotermos, los cuales tienen que gastar energía en el mantenimiento de la temperatura corporal. Además, no tienen que convertir el amoníaco (producto final del catabolismo proteínico) a sustancias menos tóxicas (por ejemplo urea o ácido úrico) antes de su excreción. De esta forma, gran parte de la energía se utiliza en el crecimiento y explica los mejores factores de conversión que se logran al alimentar peces (Isea, 2008; Llanes, 2006). En el caso de un consumo insuficiente de energía, se provoca una pérdida de proteína, ya que parte de la misma se utiliza para cubrir las necesidades energéticas. Contrariamente, un exceso de energía en las dietas junto con un deficiente aporte proteico conduce a un incremento de los depósitos de grasa en el cuerpo y reduce el crecimiento del pez debido a la carencia de los nutrientes necesarios para su desarrollo (Van del Meer *et al.*, 1997).

2.3.2. *Requerimiento de proteína*

Las proteínas son nutrientes indispensables para la estructura y función de todos los organismos vivos, debido a que son componentes esenciales del tejido muscular, órganos internos, cerebro, nervios y piel (Tacón, 1989). Sus funciones son la reparación y formación de tejido, actúan como energía o como sustrato para la formación de lípidos o grasas, además de la formación de enzimas, hormonas y otros compuestos biológicos. Se ha comprobado que los peces tienen un requerimiento de este nutriente mayor que los mamíferos y el óptimo se determina de acuerdo al balance de energía-proteína, calidad biológica de la proteína del alimento consumido, la composición de aminoácidos, digestibilidad, así también como la cantidad y la calidad de la fuente energética no proteica. Los requerimientos proteicos de los peces varían de una especie a otra, ya sea por el tamaño o edad del animal y las condiciones ambientales en las que se encuentra (Guevara, 2003; Anomy, 1983). Los aminoácidos se dividen en esenciales (AAE), que son los que no pueden ser sintetizados dentro del cuerpo de la especie, por lo que deben ser suministrados en la dieta, requiriendo 10 de los primeros para el adecuado desarrollo de los organismos (Tabla 4). Los no esenciales (AANE), son aquellos aminoácidos que pueden ser sintetizados en el cuerpo, a partir de fuentes de carbono adecuada y de los grupos amino provenientes de otros aminoácidos o de compuestos simples.

Tabla 4. Requerimientos de aminoácidos esenciales (% de proteína) en *Oreochromis niloticus*.

Aminoácidos	%
Lisina	5.12
Arginina	4.20
Histidina	1.72
Treonina	3.75
Valina	2.80
Leucina	3.39
Isolucina	3.11
Metionina	2.68
Fenilalanina	3.75
Triptófano	1.00
Metionina + Cistina	3.21
Fenilalanina + Tirosina	5.54

La cisteína y tirosina, surgen a partir de aminoácidos esenciales como la metionina y fenilalanina, respectivamente. Para la formulación de una dieta, es importante conocer que la calidad de la proteína en los ingredientes alimenticios depende de la composición de aminoácidos que la caracterizan y de la disponibilidad biológica de los mismos. Por lo tanto, entre más se aproxime el patrón de AAE de la proteína a los requerimientos dietéticos de AAE de la especie en cuestión, mayor será su valor nutricional y utilización. Un ejemplo es la lisina, que es el principal aminoácido limitante en la mayoría de las dietas acuícolas y en base a esta expresar la necesidad dietética de los otros nueve aminoácidos esenciales. En el caso de la tilapia de Nilo, los requerimientos de Met + Cys total y digerible varían de acuerdo a las condiciones de cultivo y la etapa del pez. Santiago y Lowell (1988) determinaron exigencias de Met + Cys de 0.95%, que corresponden a una relación de Met + Cys / Lys de 59.4%, superior a la estimada por Furuya *et al.* (2000) de 45 %. Por otro lado, en estudios realizados en juveniles se encontró que el aumento de lisina en las dietas aumentaba linealmente la ganancia de peso, rendimiento en canal, aumento de la retención de nitrógeno y tasa de eficiencia proteica, por lo que se observaron exigencias de 1.56% para ganancia de peso y de 1.44% para conversión alimenticia. En base a lo anterior, se recomiendan niveles de 1.44% de lisina digerible que correspondan al 5.23% de la proteína total en dietas para juveniles (Furuya *et al.*, 2006). Los principales signos de deficiencias de proteínas y aminoácidos en los cultivos de tilapias incluyen el retardo del crecimiento, pobre conversión alimenticia, reducción del apetito y en ocasiones deformación de la columna, especialmente por la deficiencia de triptófano y cataratas, por la deficiencia de metionina (Llanés, 2006; Tacon, 1989).

2.3.3. Requerimiento de lípidos

Los organismos acuáticos utilizan los lípidos como transporte alimentario de vitaminas liposolubles y fuente de energía metabólica y de ácidos grasos esenciales (AGE) (Aldana, 2001). Durante su digestión, las lipasas actúan sobre las grasas, obteniendo glicerina y ácidos grasos (AG), para después metabolizarse de acuerdo a las necesidades del organismo (Guevara, 2003). Los peces requieren ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), los cuales son esenciales para su desarrollo y producción normal, por lo que deben ser suministrados en la dieta (Pérez *et al.*, 2007). Para cubrir dicho requerimiento, es

necesaria la ingesta de ácido linoleico (18:2; AL) omega-6 y ácido α -linolénico (18:3; α -LN) que se transforman metabólicamente a los homólogos C20 y C22 funcionalmente esenciales, como son: ácido araquidónico (20:4; AA), ácido eicosapentaenoico (20:5; EPA) y el ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) (Connor, 2007).

Según Steffens (1997), los tejidos de peces marinos constituyen una fuente importante AGPI omega-3, particularmente el EPA, DHA y en menor cantidad el ácido docosapentaenoico (22:5; DPA). Los peces marinos requieren estos AGE para mantener la fluidez de sus membranas celulares cuando se desarrollan a bajas temperaturas y los obtienen por medio de los distintos alimentos ingeridos en su medio (Guler *et al.*, 2008; Melendez *et al.*, 2006; Boscolo *et al.*, 2005). Por otro lado, los peces de aguas dulces cálidas poseen menores niveles de AGE teniendo una mayor proporción de AG C16 y C18 de las series omega-3 en los tejidos (Tacon, 1989). No obstante, presentan una mayor capacidad a nivel enzimático para elongar y posteriormente desaturar AG de 18 carbonos como el AL y el α -LN presente en la dieta. Entre los peces de mayor actividad enzimática se encuentran la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), carpa común (*Cyprinus carpio*), tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), entre otros (Pérez *et al.*, 2007). Lo anterior permite que en la elaboración de dietas se incluyan aceites vegetales, siempre y cuando estos contengan cantidades adecuadas de AL y α -LN (Turchini *et al.*, 2006). En el caso de la tilapia de Nilo, la literatura sugiere que tienen un requisito de AL en el intervalo de 0.5%-1.0% y 0.45-0.64% de α -LN de la dieta seca para un óptimo crecimiento (Bell y Sargent, 2003). De acuerdo a la Figura 4, la ruta marcada es empleada para la biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga, en donde la actividad de las $\Delta 5$ desaturasas presentan limitaciones para peces marinos, mientras que los peces de agua dulce poseen actividad en las $\Delta 5$ y $\Delta 6$ desaturasa, teniendo la capacidad de convertir AGE a EPA y DHA (Pérez *et al.*, 2007). En peces tropicales de agua dulce como la tilapia (*O. niloticus*) se podría esperar una conversión de α -LN a DHA mayor que la de los salmónidos, dados a los bajos niveles de AGPI n-3 en los ecosistemas tropicales (Tocher *et al.*, 2002; Olsen *et al.*, 1990).

2.3.4. Requerimiento de carbohidratos

Los carbohidratos son considerados como una fuente de energía y puede sustituir un 25% de la energía proporcionada por los lípidos, por lo cual, existen estudios que proponen que

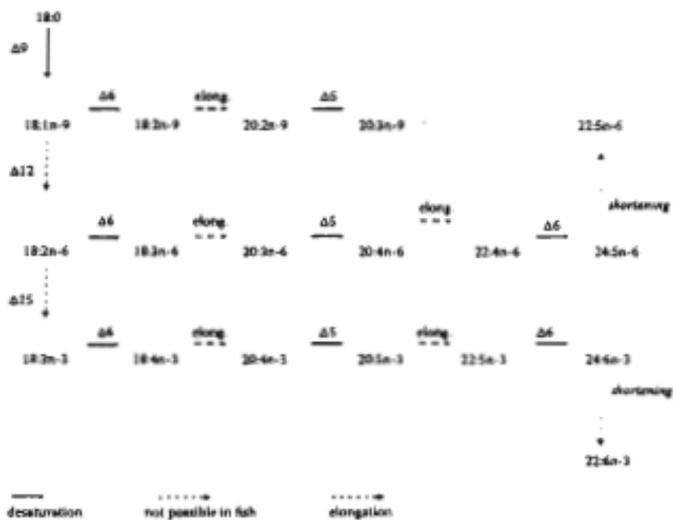


Figura 4. Ruta de biosíntesis de ácidos grasos en peces (Tocher *et al.*, 2002).

la ingestión de carbohidratos en la alimentación puede proporcionar un efecto de ahorro de energía de proteínas en el pez (Aldana, 2001; Degani y Viola, 1987). Sin embargo, las distintas especies de peces difieren mucho en su capacidad de digerir los carbohidratos. Esta variabilidad refleja los cambios anatómicos y funcionales, así también como las diferencias del tracto gastrointestinal y de los órganos asociados, reflejando la variación en las fuentes de nutrientes. La digestión y la absorción de carbohidratos tienen lugar a lo largo de las mismas rutas generales en especies herbívoras, omnívoras y carnívoras. Los polisacáridos se descomponen por α - y β -endoglucosidasas, mientras que los di- y oligosacáridos son hidrolizados en sus monosacáridos constituyentes por varias enzimas. La digestión continúa intracelularmente en los enterocitos, que poseen varias enzimas con actividades de disacaridasa. Las especies de peces con alta actividad microbiana intestinal pueden ser suministradas con energía adicional de carbohidratos a través de rutas alternativas (Buddington y Krogh, 2004).

Las tilapias aprovechan las grasas y carbohidratos debido a su alta disponibilidad, por lo que digieren hasta el 70% de la energía bruta consumida como fuentes de energía, propiciando que las proteínas consumidas se utilicen para el crecimiento, procesos celulares fundamentales y funciones productivas particulares (Llanes, 2006; Boscolo *et al.*, 2005; Tacon, 1989). De esta manera, los peces omnívoros como la tilapia del Nilo y la carpa común que se alimentan a niveles tróficos bajos, pueden utilizar eficientemente altos niveles de carbohidratos (30-50%), en comparación con las especies carnívoras de alto nivel trófico (Enes *et al.*, 2011; Enes *et al.*, 2006; Hemre *et al.*, 2002; Wilson, 1994).

2.3.5. Requerimiento de vitaminas

Para todo ser vivo, las vitaminas son compuestos orgánicos esenciales que se requieren en cantidades traza para catalizar todas las reacciones metabólicas y promover el crecimiento normal, la reproducción y la salud. Los peces requieren entre 12 y 15 vitaminas en su dieta, la mayoría de estas las vitaminas no son sintetizadas por los organismos, por lo tanto deben de ser suplementadas en su alimentación. Los requerimientos vitamínicos en la alimentación de peces dependerán de factores como el comportamiento alimenticio, la capacidad de síntesis de la microflora intestinal, el tamaño y tasa de crecimiento, el medio donde se desarrolle el pez y la disponibilidad del alimento

(Cantor, 2007; Tacon, 1989). Cuando existe una deficiencia vitamínica en la alimentación, los organismos pueden presentar algún signo morfológico y fisiológico. En el caso contrario, cuando la ingesta alimenticia excede la demanda metabólica, puede conducir a condiciones tóxicas (hipervitaminosis), provocando disminución en el crecimiento, reacción tóxica en el hígado y mortalidad (Tacon, 1989; Hilton, 1983; Halver, 1980; Andrews *et al.*, 1980; Poston, 1971).

2.3.6. *Requerimiento de minerales*

Los elementos minerales esenciales son clasificados en dos principales grupos, acorde a su concentración en el cuerpo animal: los macroelementos y microelementos. Existen aproximadamente 20 o más elementos minerales que son considerados como esenciales para la vida animal, incluyendo peces u otros organismos acuáticos, entre ellos se encuentra el calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) y el selenio (Se). Los minerales intervienen en los procesos de osmorregulación (intercambio de sales) a nivel celular e influyen en la formación de huesos, escamas y dientes. Además, ayudan en la transmisión de impulsos nerviosos y sirven como constituyentes esenciales de enzimas y hormonas (Tacon, 1989). Los requerimientos de minerales en la alimentación de los peces dependen principalmente del medio donde se encuentran y de la respuesta a la regulación de la presión osmótica (Cowey y Sargent, 1979).

2.4. **Alimento acuícola**

La nutrición acuícola está comprometida con el suministro de nutrientes a organismos acuáticos a través la dieta, ya sea indirectamente a través de la producción de alimento natural dentro del cuerpo de agua donde se cultivan, o de una manera directa o en forma de un alimento diseñado (Tacon, 1989). Los alimentos comerciales son comúnmente utilizados en cultivos en países desarrollados o en vías de desarrollo, esto se debe a la serie de ventajas que acumulan, como su formulación compensada, su consistencia, estabilidad, propiedades organolépticas, fácil almacenamiento y conservación (Castello, 2000). Por tal motivo, el desarrollo y fabricación de piensos comerciales ha llevado a la industria acuícola a crecer industrialmente, desarrollando dietas específicas para cada

especie, área y época del año. Así mismo, se han incursionado en estudios para crear dietas funcionales que promuevan la salud, creen resistencia al estrés, disminuyan enfermedades dentro de los sistemas de cultivo y minimicen el impacto ambiental. Cabe resaltar que los alimentos formulados deben diseñarse con ingredientes de bajo costo y aportar requerimientos alimenticios que sean digeribles (Escobar-Briones *et al.*, 2006).

2.4.1. *Formulación y fabricación de las dietas*

Al elaborar una dieta destinada a utilizarse en la producción animal, se desarrollan las siguientes dos etapas, la primera es la formulación, que se basa en la investigación de los requerimientos nutricionales de la especie, además de la composición y coste de las materias primas a utilizar. En segundo lugar se tiene la fabricación, que tiene el objetivo de transformar la fórmula previa en un soporte físico que sea susceptible a ser ingerido en cantidades adecuadas por la especie (Espinosa de los Montero y Labrata, 1987). Los requerimientos nutricionales para peces pueden obtenerse a través de tablas en trabajos científicos que especifiquen las exigencias de acuerdo a la etapa fisiológica o tamaño de la especie. La composición química de las materias primas a emplearse puede ser determinada por métodos de análisis químicos o basarse en datos publicados en tablas de composición de alimentos elaboradas por diversas instituciones (Walter, 2004; Bondi, 1987). Con los datos anteriores ya expuestos, se procede a realizar la formulación de la dieta y a determinar el proceso de fabricación (Martínez *et al.*, 1989). Cabe señalar que la formulación y especificaciones técnicas del producto a elaborarse no deben ser afectadas por el proceso de fabricación, por lo tanto deben realizarse procesos que garanticen la total expresión de sus características químicas (Church, 2002; Bondi, 1987). Así mismo, al iniciar con la fabricación de la dieta, debe tomarse en cuenta que los ingredientes son productos con distintos tamaños y densidades, por lo que debe realizarse una reducción de tamaño de tal manera que pasen a través de una malla de 0.25 mm para premezclas en alimentos de iniciación y de 0.354 mm para crecimiento y reproductores. Por consiguiente, se lleva a cabo un proceso de peletizado o extruido, en donde las materias primas son sometidas a mezclado, hidratación, calentamiento, presión, secado y/o enfriado.

La peletización es un proceso mecánico en el que la mezcla de ingredientes es forzada a pasar bajo presión a través de orificios cónicos, el proceso implica calentamiento a 80 °C, humedad de alrededor del 18% y presión. Después del proceso, sigue un proceso de enfriamiento y secado (Walter, 2004). Por su parte, el proceso de extrusión se realiza en condiciones de alta presión, humedad en forma de vapor de agua y temperaturas cercanas a 150 °C. La diferencia fundamental está en que al final ocurre una densificación (mayor densidad) en la peletización y una expansión (menor densidad) en la extrusión. Como resultado de ambos procesos, los carbohidratos sufren gelatinización, de esta forma se pueden producir gránulos de variable flotabilidad y con diferentes tasas de velocidad de hundimiento (Walter, 2004; NRC, 1993). Esto garantiza la aceptación y la homogeneidad del contenido de nutrientes en los diferentes tamaños de pelets, los cuales corresponden a larvas, crías, juveniles y reproductores (Church, 2002; Tacon y Cowey, 1985). En adición, la atractividad y la palatabilidad de un alimento dependen de los aminoácidos y lípidos que se liberan, los cuales son detectados por medio de quimo-receptores. Por su parte, los lípidos actúan como lubricante, que ayuda en el paso del alimento a través del dial de la peletizadora, además ayudan a reducir el polvo en los alimentos. Cabe resaltar que el tiempo de almacenamiento afecta la calidad del alimento y está influenciado por el nivel de humedad, tanto del producto como del medio ambiente. La mayoría de productos se procesan con un 10% a 12% de humedad, lo cual permite almacenarlos sin problemas (Akiyama y Chwang, 1993).

2.5. Materia prima

La elaboración de dietas acuícolas es una de las actividades industriales que actualmente requiere una mayor demanda de aceites de pescado, ya que tradicionalmente son incluidos en su elaboración como fuente común y abundante de AGPI omega-3, como EPA y DHA, al igual que la harina de pescado, la cual también es utilizada como fuente de proteína (Valenzuela *et al.*, 2014; Valenzuela *et al.*, 2012; Mundheim *et al.*, 2004). Estos ingredientes alimenticios tienen un alto valor nutricional, son digeribles y tienen buena palatabilidad, sin embargo, son muy caros y su disponibilidad es variable (Civera *et al.*, 2010). Esto se debe a que provienen de las pesquerías pelágicas (sardina, anchoa, jurel, atún, entre otros), en donde la pesca ha llegado a su límite máximo de explotación y

además fluctúa en función de los cambios climáticos, lo cual contribuye a ejercer presión sobre los precios (García-Ortega *et al.*, 2010). Por tales motivos, en el año 2014 la producción pesquera mundial se vio reducida a 21 millones de toneladas, en donde el 76% fue destinado a fabricar harina y aceite de pescado. Por lo tanto, como alternativa para disminuir la problemática, se prevé que todo aumento en la producción de harina y aceite de pescado habrá de proceder del reciclado de subproductos, lo que posiblemente repercuta en la composición de estos.

2.5.1. Alternativas de insumos

Debido a la demanda cada vez mayor, los precios de harina y aceite se han incrementado de manera importante, representado entre el 60 y 70% de los costos de producción, causando aumento en los precios de las dietas y perjudicando la sustentabilidad y rentabilidad de la actividad acuícola (Rojas, 2008). Por lo anterior, resultan relevantes las investigaciones enfocadas a encontrar fuentes alternativas de proteína y lípidos. El desarrollo debe ser de manera que represente un ahorro en los costos de producción, así también que contribuyan a la optimización en la eficiencia productiva y sea amigable con el ambiente (Civera *et al.*, 2010; García-Ortega *et al.*, 2010).

Actualmente, existen fuentes de origen vegetal para la elaboración de dietas, las cuales minimizan los costos de producción y pueden ser considerados con alto contenido proteínico y lipídico. Como fuentes de proteína se emplean harinas de soya, de trigo (gluten), algodón, arroz, sorgo y de otras leguminosas. Cabe resaltar, que aunque las proteínas vegetales tengan deficiencia de algunos aminoácidos, principalmente metionina y cisteína, se pueden complementar con otras fuentes proteicas de origen vegetal con diferente perfil de aminoácidos.

Por otro lado, se emplea la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales, fundamentalmente por su precio favorable y disponibilidad inmediata, ya que pueden extraerse de semillas o frutas. La mayoría de los aceites vegetales actualmente son aceites de semillas y comúnmente contienen una cantidad relativamente alta de AL, con pocas excepciones, tales como aceites de colza y de cacahuete. Sin embargo, también se producen algunos aceites de frutas que son fuentes ricas en AGPI de C18 y carecen de AGPI omega-3, no obstante estas fuentes pueden ser usadas en la formulación de dietas

para peces de agua dulce, ya que pueden metabolizarla fácilmente y utilizarlo como fuente de energía, debido a su capacidad de convertir AGPI C:18 a C:20 y C:22. Es importante mencionar que los ácidos grasos EPA y DHA son metabólicamente más activos que su precursor el α -LN y que se requieren 10 partes de α -LN para sintetizar una parte de DHA (Mourente *et al.*, 2005; Lewis *et al.*, 2000). De esta manera, se acude a fuentes de α -LN presentes en el aceite de lino, de canola y en menor proporción de soya, buscando un adecuado balance entre ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (16:0, AP), abundante en el aceite de palma y monoenoicos como el AL (Losekann *et al.*, 2008; Tocher, 2002 ; Henderson y Sargent, 1985). Viegas y Contretas (1994) reportaron que peces tambaqui (*Colossoma maa-opomum*) alimentados con mayores porcentajes de AGPI como fuente de lípidos mostraron mejor rendimiento en términos de ganancia en longitud y tasa de eficiencia de proteína. En otro caso, tilapias híbridas alimentadas con dietas suplementadas con aceites vegetales presentaron un crecimiento similar o ligeramente mayor, en comparación con peces alimentados con dietas a base de aceite de pescado (Ng *et al.*, 2000).

Los subproductos agroindustriales también toman un papel importante como ingredientes en dietas acuícolas, como es el caso de la pasta de soya, la cual es ampliamente utilizada en la alimentación animal, por su alto contenido de proteína, su disponibilidad y su costo, que generalmente es menor al de la harina de pescado (Civera *et al.*, 2010). Otro subproducto agroindustrial son las semillas de papaya, las cuales son descartadas al utilizar el fruto para la obtención de papaina o para su consumo comercial. Las semillas de papaya contienen un 30% de lípidos con una composición de ácidos grasos de 76% de AL, 13% de AP, 4% de ácido esteárico (C18:0) y solo 3% α -LN (Puangsri *et al.*, 2004).

2.5.2. Uso de antioxidantes en la acuicultura

Pese al crecimiento y la sustentabilidad de la acuicultura, está aún presenta dificultades como: la depredación, el manejo de grandes poblaciones de organismos, bajas repentinas de temperatura y de niveles de oxígeno, además de presentar riesgo de contaminación en el cuerpo de agua donde se trabaja, ya sea por contaminantes naturales o xenobióticos. Debido a los problemas mencionados, los organismos no solo pueden resultar lesionados, sino que también pueden llegar a desarrollar estrés oxidativo entre otras condiciones

adversas durante su cultivo (Valavanidis *et al.*, 2006; Arredondo y Lozano-Gracia, 1996; Dias *et al.*, 1996). El estrés oxidativo es una alteración producida por un desequilibrio entre la generación de radicales libres (RL) y la defensa de antioxidantes (AO) (Valavanidis *et al.*, 2006). Esto puede llegar a dañar las células, atrofiándolas y acelerando los procesos de envejecimiento, provocando en el cultivo bajas tasas de crecimiento, la susceptibilidad a enfermedades, disminución de la calidad nutricional del producto y su modificación en la textura y color (Ahumada-Davila y Barrales-Arroyo, 2011; Lie, 2001).

En la actualidad, en las dietas comerciales se lleva a cabo la adición de antioxidantes, tales como butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT), el propilgalato (PG), el butilhidroxiquinona terciaria (BHQT), entre otros. Sin embargo, estos antioxidantes son de tipo sintético y se ha comprobado su efecto cancerígeno y/o teratogénico por medio de estudios clínicos. Además, pueden llegar a concentrarse en el hígado y causar una marcada proliferación de retículos endoplasmáticos en el consumidor (Lundebye *et al.*, 2010; Ochoa y González, 2008). Por tal motivo, el uso de dichos antioxidantes se encuentra limitado de manera general a 200 ppm con respecto al contenido de grasas y aceites (incluyendo los ácidos grasos esenciales) que contenga el alimento acuícola, controlando de esta manera los efectos negativos para quienes lo consumen (CÓDEX, 2013; Tacon *et al.*, 2009).

2.5.3. Innovación de fuentes de antioxidantes

Normalmente se realiza la sustitución de antioxidantes sintéticos por antioxidantes extraídos de plantas y otras fuentes naturales. Un ejemplo de ello son los extractos fenólicos a partir de subproductos de la uva y aceite de palma, utilizados en la conservación de pescado graso en congelación (Pazos, 2005; Wang *et al.*, 2004). Entre los principales compuestos fenólicos se encuentran los tocoferoles, donde la mayor actividad biológica de los cuatro principales corresponde al α -tocoferol. En los últimos años se ha llegado a la conclusión de que el α -tocoferol permite mantener la estabilidad lipídica en filetes de pescado y dietas acuícolas mejor aún que otras formas de tocoferoles, ácido rosmérico y que los mismos antioxidantes sintéticos (Amin *et al.*, 2012; Avello y Swalsky, 2006; Pinho *et al.*, 2005). Por otro lado, entre los carotenoides se encuentra el β -caroteno, el cual se ha comprobado que es de 20 a 100 veces más reactivo

que el 2,5-difenilfurano y el 1,4-diaza biciclooctano, esto a presiones bajas de oxígeno. Otros compuestos como la vitamina C actúan como un destructor de cadenas de radicales para los peróxidos y como agente sinergista con la vitamina E (tocoferoles), lo cual es aplicado para la conservación de dietas para tilapia híbridas (*O. niloticus* X *O. aureus*) (Larson, 1988; Hamre *et al.*, 1997).

2.6. Aguacate (*Persea americana* Mill.)

El aguacate, perteneciente a la especie *Persea americana* Mill, es una planta arbórea de la familia de las Lauráceas y originario de América Central y el sur de México. Su fruto es una baya de forma ovoide o redonda que posee una cáscara de textura rugosa o lisa, su color puede cambiar de verde claro a verde oscuro y de violeta a negro al madurar (Figura 5). Su pulpa es oleaginosa de color verde amarillenta y en su centro tiene una semilla de forma variada, en donde predomina su forma redonda y cónica, de coloración entre café y negra (SAGARPA, 2011; Grageola, 2009). De acuerdo a la FAO, tan solo en el año 2014 se llegaron a producir poco más de 5 millones de toneladas de aguacate a nivel mundial. Entre los principales países productores se encuentra México (1'520,695 t), República Dominicana (428,301 t), Perú (349,317 t), Indonesia (307,326 t) y Colombia (288,739 t), en donde nuestro país sobresale como principal productor. Ante esta relevancia, el país aporta alrededor del 30% de la producción mundial, debido a que el fruto se cosecha durante todo el año, siendo de julio a diciembre donde se llega a cosechar más de la mitad del total de la producción. Los principales estados productores se muestran en la Tabla 5 (FAO, 2017; SAGARPA-SIAP, 2015).

Básicamente, el aguacate se divide en tres grupos o variedades, los cuales se clasifican en:

- *Persea americana* var. *drymifolia* (mexicana). Es resistente al frío, tiene un alto contenido de aceite y su tamaño es variable con tendencia a ser pequeño.
- *Persea nubigena* var. *guatemalensis* (guatemalteca). Posee un tamaño pequeño, de forma redonda, cáscara gruesa y rugosa al tacto.
- *Persea americana* Mill. var. *americana* (antillana). Se puede adaptar a climas fríos y su tamaño es mayor a los anteriores (Storey *et al.*, 1986; Williams, 1977).



Figura 5. Árboles de aguacate *Persea americana* Mill. con frutos.

Tabla 5. Volumen de producción de las principales entidades federativas de México.

Entidad federativa	Volumen (t)
1. Michoacán	1,219,554
2. Jalisco	100,250
3. México	64,928
4. Nayarit	36,691
5. Morelos	27,656

(SAGARPA-SIAP, 2015)

El aguacate de preferencia en el mercado internacional lo representan la raza Mexicana o Guatemalteca, especialmente "Hass", "Fuerte" y "Nabal". La variedad "Hass" ha llegado a remplazar a la variedad "Fuerte" y es el más comercializado en México debido a sus características de productividad, calidad y resistencia al manejo (SAGARPA-SIAP, 2015; Yahia, 2010). Esta variedad es de la raza guatemalteca y de 15 a 10% mexicana, las condiciones adecuadas para su producción es a una altitud de 1000-2000 msnm, una temperatura de 16-18 °C y suelos profundos, drenados, con un pH neutro o ligeramente ácido (5.5 a 7.0) (Cerdas-Arroyo *et al.*, 2006). El fruto es de pulpa suave-cremosa y semilla pequeña adherida a la cavidad, su piel pasa de ser verde oscuro a verde purpurino al madurar (Figuras 6A y 6B) (SAGARPA, 2011). Para que el aguacate pueda entrar en un periodo de maduración comercial es necesario cosecharlo, debido a que el árbol produce un inhibidor que pasa al fruto a través del pedúnculo. La determinación del estado de madurez es imprescindible para decidir el momento de su transporte, comercialización, exportación, industrialización y la aplicación de sus compuestos nutricionales a investigaciones enfocadas al beneficio de la salud. Por lo anterior, dicha maduración puede determinarse por las características externas del fruto, como la textura, el tamaño y forma, así también se puede tomar en cuenta los días transcurridos después del amarre o acudir al desarrollo de análisis que se basan en mediciones objetivas, como la firmeza de la pulpa, el contenido de aceite, colorimetría de la cáscara y la tasa de respiración del fruto, entre otros (Corporación PROEXANT, 2002; Kader *et al.*, 2002)

2.6.1. Calidad nutricional

En la actualidad, el aguacate es reconocido como un alimento funcional por su contenido de grasa y proteína, las cuales pueden llegar a utilizarse en la reparación de tejidos dañados. Su contenido de grasa es superior a cualquier fruta y su perfil de ácidos grasos es similar al aceite de oliva. lo que lo hace igual de digerible. Los AG encontrados en la pulpa del aguacate son principalmente AGMI (71.2%) como el oleico y palmitoleico, siendo el más abundante el oleico, que representa alrededor del 59% del total de ácidos grasos. Además, contiene AGPI (13.3%) y es bajo en AGS (15.5%) (Yahia, 2010; Lu *et al.*, 2009). Cuando el fruto madura, disminuye el contenido de ácido palmítico (saturado) y aumenta el del AL (monoinsaturado) (Alvizouri *et al.*, 1992). Este posee aminoácidos esenciales

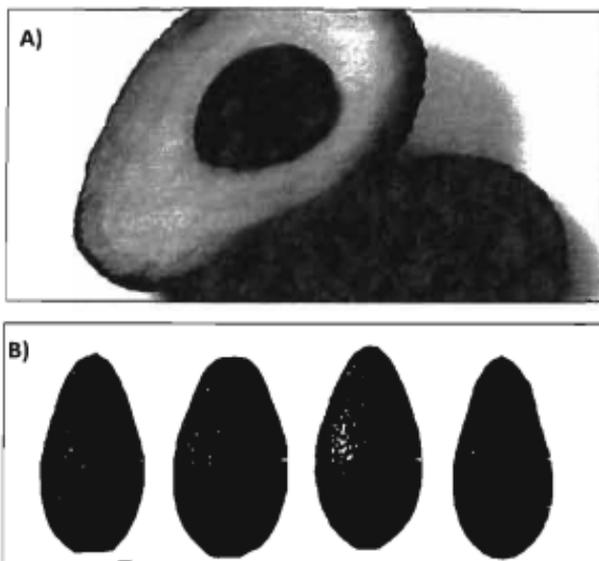


Figura 6. A) Imagen representativa del aguacate "Hass"; B) Etapas de maduración del aguacate después de su cosecha.

necesarios para la síntesis de proteínas y el metabolismo celular, presenta una variedad de vitaminas como la B₁, B₂, B₆, C, E y otros micronutrientes como potasio, ácido fólico y cobre (Quiles *et al.*, 2003; Bergh, 1992).

2.6.2. Actividad antioxidante

Además de las numerosas investigaciones relacionadas con la calidad nutricional del aguacate, también se han realizado diversos estudios sobre la presencia de compuestos fenólicos y pigmentos con actividad antioxidante. Según Rodríguez-Carpena (2011) y Gómez (1991), la pulpa, cáscara y semilla del aguacate poseen capacidad antioxidante atribuida a compuestos fenólicos, tocoferoles y glutatión. Estos actúan como estabilizadores de membranas celulares y neutralizan los radicales libres causantes del estrés oxidativo celular. Otro compuesto activo son las procianidinas, las cuales se sugiere que son los principales compuestos fenólicos asociados a la capacidad antioxidante, en el caso de la cáscara (Chávez, 2011; Wang *et al.*, 2010; Terasawa *et al.*, 2006).

Diversas investigaciones presentan al fruto como una fuente considerable de luteína y carotenoides, tales como el β -caroteno (Lee *et al.*, 1999; Gómez, 1991). Los carotenoides son antioxidantes capaces de proteger biomembranas y componentes que contienen lípidos insaturados contra el ataque de radicales libres, por lo que son aprovechados para evitar el deterioro de productos marinos almacenados en condiciones de refrigeración (Xiao-Dong, 2007). Cabe mencionar que la capacidad antioxidante del aguacate depende del mes en que se cosecha y del tiempo de maduración post-cosecha, ya que el fruto presenta cambios fisiológicos y bioquímicos, incluyendo biosíntesis y acumulación de pigmentos y antioxidantes lipídicos (Goulao y Oliveira, 2008). De acuerdo a Wang *et al.* (2012) y Villa-Rodríguez *et al.* (2011), en épocas tempranas (enero-marzo) el contenido fenólico y de glutatión se incrementan a diferencia del cosechado en fechas posteriores. No obstante, se han estudiado las fases de maduración de la fruta, donde se ha encontrado que los fenoles totales se incrementan durante la maduración.

2.6.3. Subproductos de aguacate

En las últimas décadas, el desarrollo agroindustrial ha llegado a repercutir negativamente en el medio debido a la generación de residuos. En el caso de la producción de aguacate,

este puede sufrir daños físicos al ser empacado, ya sea por compresión, roces y golpes, lo cual disminuye la calidad del fruto y por ende, no logra cumplir con las especificaciones deseadas por el comprador. A causa de lo anterior, las empresas empacadoras realizan una operación de selección de la fruta, separando aquella que no cumpla con los requerimientos establecidos para su venta o exportación, lo que provoca en ocasiones desecharlo cerca de la plantación, generando así un foco de contaminación. Del mismo modo, al llegar el aguacate a las agroindustrias, este es seleccionado y desechado nuevamente. El aguacate que es procesado industrialmente deja un desecho del 21 al 30% del peso total del fruto (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2010). Ante esta relevancia, en los últimos reportes de la FAO se informó de un desperdicio del 54% de la producción nacional (FAO, 2014; Avilés-Ríos, 2009). Esta situación sigue impulsando el perfeccionamiento e implementación de técnicas o métodos para el aprovechamiento de residuos del fruto.

2.6.4. Aguacate como insumo en alimento animal

En relación a la utilización del fruto de aguacate en el área de alimentación animal, se ha estudiado su aplicación en cerdos de engorda y en dietas convencionales para el mismo, las cuales son sustituidas parcialmente por pulpa o pasta fresca de aguacate (molienda del fruto completo). En el caso de la aplicación con pulpa, se encontró una disminución en el tamaño de ración de alimento y en el tiempo invertido en el consumo del mismo, sin evidencia de rechazo por parte de los organismos. Por su parte, la aplicación con pasta de aguacate proporcionó a la carne beneficios en cuestiones nutricionales y de vida útil, así como el aumento en la composición de ácidos grasos insaturados y promoviendo una estabilidad oxidativa del producto cárnico final (Hernández-López *et al.*, 2016; Grageola, 2009; Peralta, 2008).

La inclusión y consumo del fruto de aguacate en un alimento destinado al sector acuícola está poco documentado y solo algunos artículos lo aplican. Algunos casos son por ejemplo el de Kassahun *et al.* (2012) y Ufodike *et al.* (2006), quienes realizaron análisis químico-proximales y determinaron el perfil de aminoácidos a subproductos agroindustriales de la región, entre los cuales se encontraba la semilla y la cáscara de aguacate (sin detalles del cultivar y método de obtención). Lo anterior con el fin de encontrar solo fuentes

alternativas de proteína a bajo costo para integrarlo como insumo parcial en la elaboración de alimento. Sin embargo, ya que generalmente ambos subproductos presentan bajo porcentaje de proteína y la cáscara es alta en fibra cruda y de difícil digestión, su selección fue nula. Por otro lado, Lam *et al.* (2015) elaboraron tres tipos de alimento destinado para cachama blanca (*Piaractus brachyomus*), donde la dieta alternativa incluyó cereales, guayaba y aguacate. No obstante, la publicación citada no garantiza resultados o evidencias sólidas y comprobables, debido a que no brinda información relevante de la investigación, como la variedad del fruto, su obtención y sobre todo el nivel de su inclusión en la dieta.

Respecto al cultivo de tilapia, Chavez *et al.* (2015) incluyeron 198 g de aceite de oliva y solo 2 g de pulpa de aguacate por kilogramo de alimento elaborado. La dieta demostró ser eficiente en promover el crecimiento y el aumento de peso de la especie, sin embargo la inclusión del fruto no podría considerarse como significativa. Considerando lo antes expuesto, se puede inferir la ausencia de un estudio detallado sobre la inclusión del fruto de aguacate en una dieta acuícola destinada al cultivo de tilapia. Por tal motivo, dada la relevancia de la actividad antioxidante que el fruto presenta, su inclusión puede promoverse con la intención de inhibir la oxidación del propio alimento y contrarrestar los efectos que enfrentan los peces ante condiciones adversas, como es el estrés oxidativo. Por otro lado, su contenido lipídico presentaría ventajas sobre la fabricación del alimento, como ayudar a reducir el polvo en el producto final, ya que sirven como estabilizante. Al mismo tiempo, los lípidos podrían ser capaces de aprovecharse como fuente de energía, transporte de vitaminas liposolubles y suministro de ácidos grasos esenciales (Hernández *et al.*, 2013). En general, la inclusión del fruto al alimento acuícola podría proporcionar un valor agregado al producto, una alta actividad antioxidante y calidad en su composición nutricional.

III. JUSTIFICACIÓN

La inclusión de subproducto de aguacate en una formulación de alimento acuícola no ha sido investigada o desarrollada. Sin embargo, se ha incursionado en el tema de dietas para porcinos y ovinos a base de desechos de aguacate en la Universidad Autónoma de Nayarit, México. Es así que, con lo anterior se presenta la alternativa de emplear este mismo recurso para fines acuícolas, ya que es un sector en auge y que promueve la obtención de un alimento rico en proteína de calidad y bajo costo; además, genera fuentes de empleo en el país. Por otro lado, Nayarit es uno de los principales productores de aguacate y desecha frutos en grandes cantidades cuando no cumplen con las características necesarias para su comercialización o consumo humano por defectos físicos o tamaño, principalmente. A pesar de que los frutos no cumplen con dichos parámetros de calidad, se ha comprobado que conservan sus propiedades antioxidantes y compuestos bioactivos intactos. Por lo tanto, su inclusión como insumo en la elaboración de dietas que se utilizan en acuicultura, sustenta la utilización del subproducto, confiriendo un valor agregado a los desperdicios, los cuales pueden representar un foco de contaminación cuando son desechados en vertederos al aire libre o en los mismos campos de cultivo, fomentando la proliferación de insectos y microorganismos. Así mismo, es importante mencionar que la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos que caracterizan a este fruto pueden disminuir los efectos dañinos provocados por condiciones adversas en la acuicultura. Estas condiciones se pueden presentar debido a variaciones en factores externos como la temperatura, oxígeno disuelto, concentración de amonio del medio, entre otros, las cuales pueden desencadenar eventos como el estrés oxidativo, que a su vez comprometen la salud y bienestar de los organismos. Por último, la utilización del subproducto de aguacate pudiera tener un efecto benéfico relacionado con la reducción de los costos de las dietas y un aumento en la nutrición de las especies alimentadas con este producto debido al aporte de ácidos grasos y aminoácidos esenciales que contiene.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Elaboración de pasta de aguacate

El aguacate de la variedad "Hass" se adquirió de empresas empacadoras del municipio de Xalisco, Nayarit. Para fines de la investigación, se consideraron solo los frutos que no fueron aptos para ser comercializados, ya sea por su tamaño inadecuado, deformaciones, manchas, rozaduras o lesiones en el epitelio. Los frutos se trasladaron en contenedores de plástico a la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit para su posterior procesamiento (Figura 7A). Previamente, los frutos fueron sanitizados con agua clorada para luego retirar de forma manual la semilla (Figura 7B). Se molió la pulpa y la cáscara mediante un molino forrajero móvil de martillos y cuchillas, sin criba, accionado con un motor de gasolina. Cabe mencionar que se realizó una doble molienda para la obtención de una pasta más homogénea. Al finalizar, la pasta se empacó al vacío y se almacenó en refrigeración (7° C), para después usarse como insumo en la elaboración del alimento para tilapia.

4.2. Análisis proximal de las materias primas

Previo a la formulación de las dietas experimentales se llevó a cabo el análisis proximal de las materias primas a utilizar:

- Harina de pescado (HP: aporte proteico).
- Harina de soya.
- Aceite de pescado (AP: aporte lipídico).
- Harina de trigo.
- Pasta de aguacate.

El análisis consistió en la determinación de humedad, lípidos, proteína y cenizas bajo los métodos propuestos por la A.O.A.C. (2012). A continuación se describen dichas metodologías.

4.2.1. Humedad

El proceso se basó en la pérdida de peso del insumo debido a la evaporación del agua disponible. Para iniciar, se pesaron 10 g de muestra (por triplicado) en cápsulas de aluminio

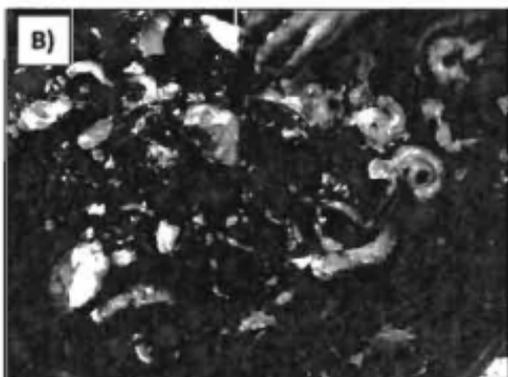


Figura 7. Proceso de elaboración de pasta de aguacate (eliminación de semilla).

de peso constante conocido. En seguida, se colocaron en un horno de secado (TERLAB,TE-H80DM) a una temperatura de 75 °C y a una velocidad de aire de 3.5 m/s hasta registrar un peso constante. Al cumplirse el tiempo, las muestras se enfriaron en un desecador durante 20 min, para finalmente registrar su peso e insertarlo en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{(W \text{ de la capsula} + \text{muestra H}) - (W \text{ de la capsula} + \text{muestra S})}{\text{Muestra H}} \cdot 100$$

(W) = Peso; (H) = Húmeda; (S) = Seca.

4.2.2. Lípidos

La determinación se llevó a cabo por el método de extracción de lípidos en un equipo Soxhlet. Se inició colocando 3 g de muestra seca (por triplicado) en dedales de celulosa y a su vez, 150 mL de éter de petróleo en un matraz bola de fondo plano con capacidad de 250 mL. Lo anterior se incorporó en el equipo y se colocó en recirculación, para después llevarlo a ebullición (60 °C punto de ebullición del éter de petróleo) sobre placas de calentamiento durante 5 h, tal como se muestra en la Figura 8A. Al término del proceso, los matraces se pasaron al rotavapor (Figura 8B) para recuperar el solvente. Posteriormente, los matraces con la grasa se colocaron en una estufa de sacado a 60 °C durante 12 h. Por último, se registraron los pesos constantes y se insertaron en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Lípido} = \frac{(WD + WmS) - (WD + WmSR)}{WmS} \cdot 100$$

(WD) = Peso del dedal, (WmS) = Peso de la muestra seca; (WmSR) = Peso de la muestra seca después del reflujo.

4.2.3. Proteína

La determinación de proteína se realizó por el método de micro-kjeldahl, el cual inició en la etapa de digestión. Primero, de cada muestra seca previamente pulverizada se pesaron 2 g

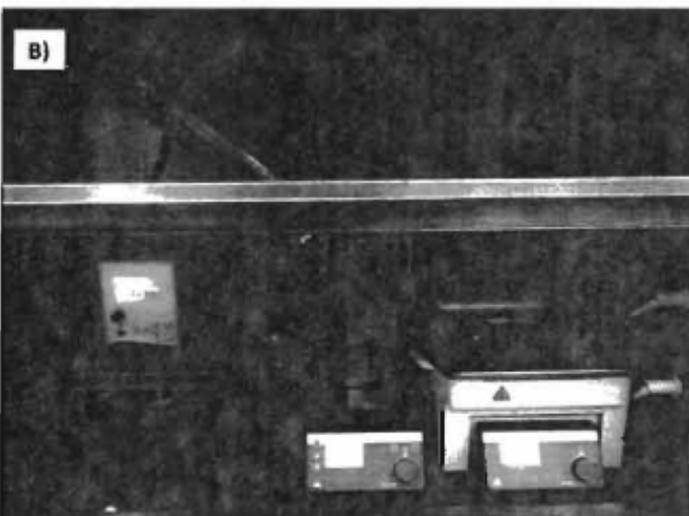
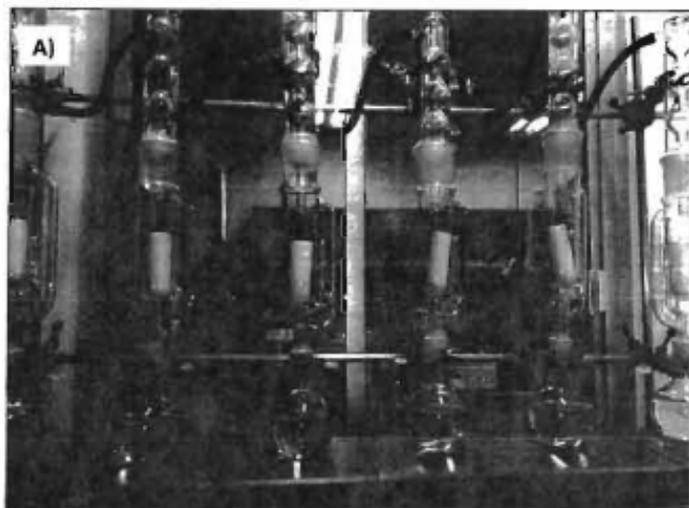


Figura 8. Extracción de lípidos. A) Equipo soxhlet; B) Equipo de rotaevaporación.

por triplicado y se depositaron en un matraz Kjeldahl de 100 mL, junto con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 2.3 g de catalizador elaborado a partir de óxido de mercurio (4 g) y sulfato de potasio (190 g). Posteriormente, se colocó el matraz Kjeldahl sobre la placa de calentamiento del equipo digestor a 400 °C en un intervalo de 5-20 min, según el tipo de muestra. Pasado el tiempo, la reacción se neutralizó agregando al matraz 10 mL de peróxido de hidrógeno, provocando la clarificación del compuesto. Transcurridos 10 min, se retiró el matraz de la placa y se dejó enfriar para luego ser aforado a 100 mL.

En la siguiente etapa de destilación, se preparó previamente un matraz con 20 mL de ácido bórico al 2% y 3 gotas de indicador *Shiro Tashiro*, formándose un compuesto color morado. El matraz se colocó en la parte final del destilador, tal como lo muestra la Figura 9. Después se agregaron 20 mL de la muestra resultante de la etapa de digestión en la parte inicial del destilador, seguido de 20 mL de NaOH al 50%. El destilado se retiró hasta tener un volumen de 50 mL, el cual vira a color verde. Finalmente para la etapa de titulación, se coloca el matraz con los 50 mL de destilato bajo la probeta de titulación, la cual debe contener ácido sulfúrico preparado a 0.01N. El gasto de ácido obtenido durante la titulación se registró y se insertó en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{(V)(N)(0.014)(100)(100) \cdot 6.25}{(M)(20)}$$

V = mL gastados de ácido sulfúrico en la titulación; N = Normalidad del ácido sulfúrico; 0.014 = Miliequivalentes de nitrógeno; 100 = Factor de dilución; 100 = Factor de porcentaje; 6.25 = Factor de conversión; M = Gramos de muestra.

4.2.4. Cenizas

Para esta determinación se pesaron 2.5 g de cada muestra seca por triplicado un crisol con peso constante conocido. Posteriormente, se colocó en la mufla (Terlab, TE-M20DR), en donde se llevó a cabo una escala de temperaturas, iniciando con 180 °C por 2 h, seguido de 280 °C por 1 h y finalmente 550 °C por 6 h. Una vez transcurrido el tiempo, se colocaron



Figura 9. Equipo de destilación de micro-kjeldahl.

los crisoles en un desecador hasta enfriar y se pesaron para registro de su peso constante. Los resultados se registraron e insertaron en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(W_{\text{crisol}} + C) - (W_{\text{crisol}})}{(W_{\text{crisol}} + mS) - (W_{\text{crisol}})} \cdot 100$$

(W_{crisol}) = Peso del crisol; (mS) = Muestra seca; (C) = Ceniza.

4.3. Formulación de dietas experimentales

Se realizaron 4 muestras experimentales en el laboratorio: 1 dieta de referencia creada a partir de la fórmula base que contiene todos los insumos antes mencionados (DB correspondiente a 0% de inclusión de pasta de subproducto de aguacate) y 3 dietas adicionadas con pasta de subproducto de aguacate, las cuales se ajustaron a un nivel de inclusión del 10, 20 y 30% de la misma en base húmeda (D10, D20 y D30). Las dietas se elaboraron según los requerimientos nutricionales juveniles de tilapia *O. niloticus* propuesto por Bureau y Cho (1994), los cuales requieren 35% de proteína y 8-10% de lípidos.

4.4. Elaboración de las dietas experimentales

Antes de iniciar el proceso, se pesaron los insumos destinados para cada una de las dietas: harina de pescado, soya y trigo, seguido de gnetina y pre-mezcla de vitaminas y minerales. Para asegurar la mínima manipulación de la pasta de aguacate, esta se pesó e incorporó al final del proceso mezclado de cada una de las dietas correspondientes evitando que entrara en contacto con el agua caliente, la cual es utilizada para la hidratación del almidón.

4.4.1. Dieta base (DB)

El proceso se inició mezclando las harinas (harina de pescado, trigo y soya) junto con la gnetina hasta quedar integradas homogéneamente, en seguida se añadió aceite de pescado y se mezcló hasta incorporarse. Se agregó agua (120 mL/200 g de alimento), la cual se calentó previamente hasta los 70 °C. Por último, se dejó enfriar la masa a temperatura ambiente y se incorporó la pre-mezcla de vitaminas y minerales para evitar pérdidas por altas temperaturas.

4.4.2. Dietas con inclusión de pasta de aguacate (D10, D20 y D30)

Para la elaboración de las dietas restantes se siguió el procedimiento descrito anteriormente, incorporando la proporción correspondiente de pasta de aguacate (10, 20, 30%) y agregando 100, 60 y 50 mL de agua para la D10, D20, D30, respectivamente.

4.4.3. Peletización

La masa resultante se colocó en un molino de carne (Torrey modelo 22), equipado con un dado de 3/32" (3mm). Los pelets formados (Figura 10A) se colocaron en charolas para su deshidratación en un horno Terlab, TE-H8DM, tal como se muestra en la Figura 10B. Las condiciones de deshidratado fueron a 45 °C con 3.5 m/s de velocidad de aire, durante 12 h. Al terminar el tiempo de secado, el alimento se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 20 min, para finalmente empacarse y almacenarse hasta su posterior análisis (Figura 10C).

4.5. Análisis proximal de las dietas experimentales

Se realizó análisis proximal a las dietas formuladas (experimentales) y a una dieta comercial de acuerdo a los métodos de la AOAC (2012) descritos anteriormente, añadiendo la determinación de pH con un potenciómetro (HANNA instruments, HI 2210) utilizando estándares de referencia y fibra cruda, la cual se explica a continuación.

4.5.1. Fibra cruda

Antes de iniciar la determinación de fibra cruda, la muestra fue desgrasada para su acondicionamiento, se transfirió a un vaso de *Berzelius* de 600 mL y se adicionaron 200 mL de ácido sulfúrico 0.255 N. El proceso se aplicó a 2 g de muestra (por triplicado) y éter de petróleo como solvente, de acuerdo al método de la AOAC (2012), descrito anteriormente. Para la etapa de digestión, se colocó el vaso en una placa del digestor (previamente calentada) con recirculación durante 30 min, después de haber iniciado la ebullición (Figura 11A). Al terminar, se filtró la mezcla acidificada usando un sistema *Buchner-Kitasato* con bomba de vacío y papel filtro Watman #4. Para la filtración total de la muestra se realizaron lavados del vaso *Berzelius* con agua destilada (50-70 mL) y se volvió a filtrar hasta que el agua resultante presentó un pH cercano a 7. Posteriormente, la muestra contenida en el papel para el secado de la muestra se lavó con alcohol. En seguida, se transfirió la muestra a un vaso de *Berzelius* de 600 mL añadiendo 200 mL de NaOH 0.0313 N en una piseta de

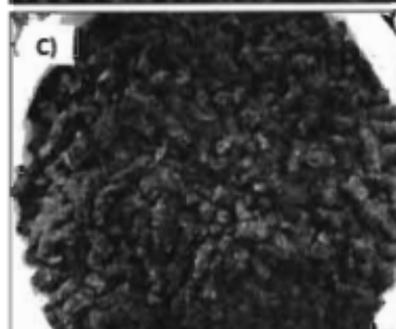


Figura 10. A) Pelets en charolas; B) Deshidratación de las dietas; C) Pelets de la dieta base.

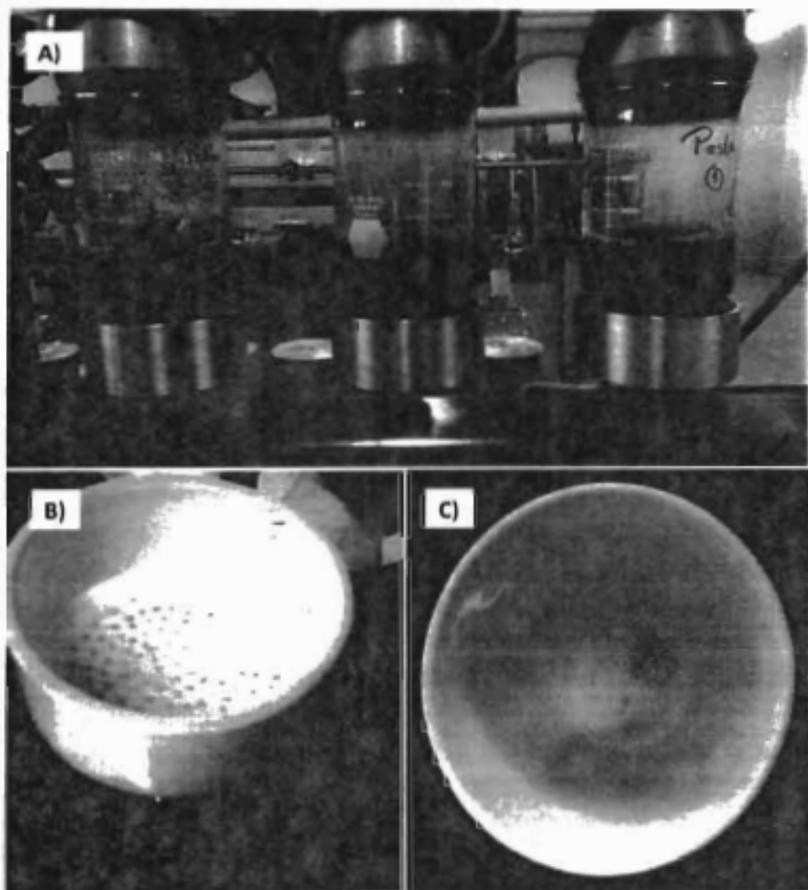


Figura 11. A) Equipo digestor de fibra; B) Filtración; C) Cenizas.

plástico (Figura 11B). La mezcla salina se sometió nuevamente a calentamiento para su digestión y su posterior filtración. La muestra resultante se colocó en un crisol (a peso constante) y secó a 110 °C durante 12 h, para después calcinarse por 3 h a 750 °C (Figura 11C). Los datos obtenidos se insertaron en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(P_s - P_p) - (P_c - P_{cp})}{M} * 100$$

P_s = Peso seco del residuo a 110 °C; P_p = Peso del papel filtro utilizado; P_{cp} = Peso de las cenizas del papel; M = Peso de la muestra; P_c = Peso de las cenizas de la muestra.

4.6. Actividad antioxidante

4.6.1. Extracción etanólica

Se tomaron tres muestras aleatorias de las dietas formuladas, dieta comercial y pasta de aguacate (previamente liofilizada) con un peso de 7.5 g. Posteriormente, se agregó la muestra ya pulverizada a un matraz bola (250 mL) de fondo plano y se vertieron 150 mL de etanol, tal como se observa en la Figura 12A y 12B. En seguida se montó el equipo *Soxhlet* y se dejó 3 h en reflujo después de caer la primera gota. Transcurrido el tiempo del reflujo, los extractos se filtraron con papel Whatman #4 y se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis, esto de acuerdo al método descrito por Maisuthisakula *et al.* (2009). Los extractos elaborados se utilizaron para la determinación de actividad antioxidante y compuestos fenólicos.

4.6.2. Actividad anti-radical. Atrapamiento del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH•)

La determinación se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Morales y Jiménez-Pérez (2001). Para iniciar, se preparó una solución DPPH• a una concentración de 7.4 mg/100 mL en etanol y se agitó por 10 min. En microtubos se depositaron alícuotas de 100 µL de cada una de las muestra (reflujo etanólico), seguido de 500 µL de la solución de DPPH•.

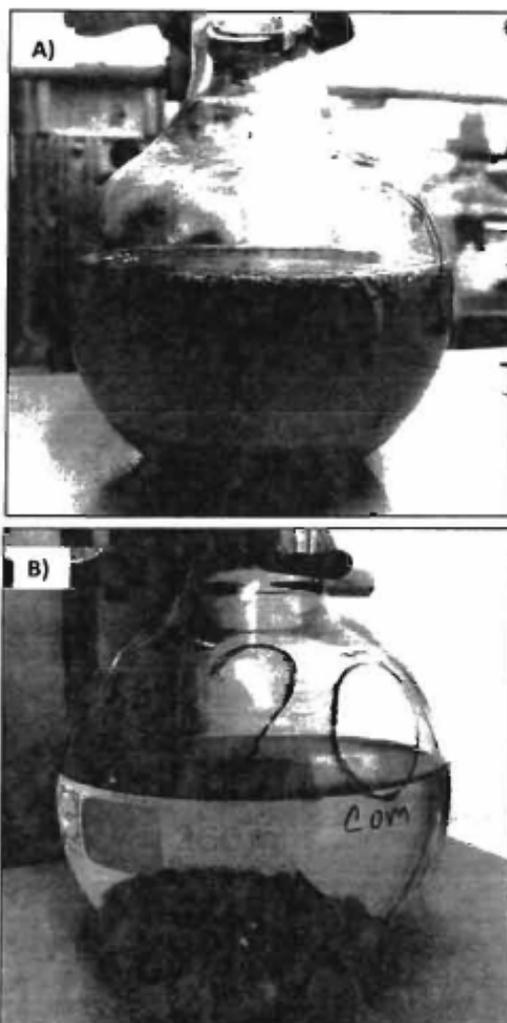


Figura 12. Extractos etanólicos; A) Pasta de aguacate; B) Dieta comercial.

Todos los compuestos resultantes de la reacción se agitaron vigorosamente en un agitador (Vortex Genie 2T modelo G560) y se dejaron reposar por 1 h a temperatura ambiente, sin contacto a la luz. Transcurrido el tiempo de reposo, se tomaron 250 μL de la muestra y se depositaron en una microplaca para su posterior lectura en un lector de microplacas (Bio-tec X55) a una longitud de onda de 520 nm. Los resultados se expresaron en μmoles equivalentes de Trolox/g ($\mu\text{mol ET/g}$), ya que se realizó una curva estándar de Trolox (Carboxílico 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromo) de 0 a 500 $\mu\text{mol/L}$.

4.6.3. Atrapamiento del catión ácido-1,1'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS^{•+})

La capacidad de atrapamiento del catión estable ABTS^{•+} se determinó de acuerdo a los métodos reportados por Re *et al.* (1999) y Kuskoski *et al.* (2004). El radical se obtuvo tras la reacción del compuesto ABTS^{•+} a una concentración de 7 mM con persulfato potásico a 2.45 mM, incubado a una temperatura aproximada de 7 °C y en la oscuridad durante 16 h. Una vez que se formó el radical ABTS^{•+}, se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de 0.700 (± 0.1) a 754 nm. En seguida, se tomó una alícuota de 20 μL de muestra, tras adicionar 980 μL de la dilución del radical ABTS^{•+}, para después medir de nuevo la absorbancia a 754 nm después de 1 min. El antioxidante sintético de referencia fue el Trolox, el cual se ensayó a una concentración de 0-1.5 mmol. Los resultados se expresaron en ET/kg.

4.6.4. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a ion Fe (II) (Método FRAP)

El ensayo de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) se realizó por el método de Hinneburg *et al.* (2006), el cual se basa en la capacidad del ácido ascórbico y los polifenoles de transferir electrones y reducir moléculas de Fe (III) a Fe (II). Para la determinación se tomó una alícuota de 1 mL del extracto etanólico, se mezcló con 2.5 mL de tampón fosfato (0.2 M, pH 6.6) y 2.5 mL de hexacianoferrato de potasio acuoso 1%. Después de una incubación de 30 min a 50 °C, se añadieron 2.5 mL de ácido tricloroacético al 10% y la mezcla se centrifugó durante 10 min. Se tomó una alícuota de 2.5 mL de la fase superior, la cual se mezcló con 2.5 mL de agua y 0.5 mL de FeCl₃ acuoso al 0.1%. Finalmente, se depositaron 250 μL de cada muestra en la microplaca y se midió la

absorbancia de 700 nm. La reducción de hierro (III) se determinó en equivalentes de trolox ($\mu\text{mol ET/g}$ de extracto).

4.6.5. Determinación de compuestos fenólicos totales

La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó de acuerdo a lo reportado por Stintzing *et al.* (2005). Se utilizaron microtubos de 2 mL, colocando alícuotas de 100 μL de la muestra (extracto etanólico), 500 μL de Folin-Ciocalteu (1:10 en agua destilada), 400 μL de solución de carbonato de sodio al 75%. Posteriormente se agitaron, para después incubarlos a temperatura ambiente durante 30 min, sin contacto a la luz. Transcurrido el tiempo, los viales fueron colocados en una micro-centrífuga (MiniSpin Eppendorf) a 10,000 rpm por 5 min, a temperatura ambiente para precipitar la muestra y obtener el sobrenadante, el cual debería estar libre de partículas en suspensión. Finalmente, se tomaron 250 μL de la muestra (sobrenadante) y se depositaron en una microplaca para su posterior análisis en un lector de microplacas marca Bio-tec X55 a una longitud de onda de 765 nm. La concentración del compuesto se obtuvo a partir de una curva estándar de ácido gálico (0 a 400 mg/L), la cual se expresó como mg equivalente de ácido gálico (EAG)/g de muestra.

4.7. Determinación de compuestos bioactivos

4.7.1. Análisis de tocoferoles

Se homogeneizaron 5 g de muestra (dietas formuladas, comercial y pasta de aguacate) en 15 mL de agua destilada. Después se tomó una alícuota de 500 μL en un frasco ámbar, añadiendo 1 mL de pirogalol al 2% y 150 μL de KOH al 50%. La extracción se realizó a 70 °C por 30 min con agitación constante, la muestra se dejó enfriar y se aplicaron tres lavados con hexano: el primero con 2 mL y los restantes con 1 mL. El sobrenadante se recolectó en frasco ámbar y se evaporó con nitrógeno gaseoso, para luego ser resuspendido en 500 μL de etanol grado HPLC. Se tomaron 500 μL y se filtraron a 0.22 μm en viales ámbar para HPLC. Finalmente, los compuestos se detectaron a 280 nm en un cromatógrafo PERKIN ELMER, series 200 (HPLC) con detector UV-Vis, utilizando una fase móvil metanol/acetonitrilo/agua (25:25:1) a un flujo de 1 mL/min y empleando una columna Symetry® C-18 de 3.8 x 150mm x 5 μm (Akhtar *et al.*, 1999). Para la identificación y

cuantificación de los principales tocoferoles se utilizaron tres estándares: α -, γ - y δ -tocoferol, adquiridos de SIGMA-ALDRICH, los cuales se prepararon a una concentración de 7.5 mg/L.

4.7.2. Análisis de carotenoides

Se molieron 5 g de muestra (dietas formuladas, comercial y pasta de aguacate) y 20 g de sulfato de magnesio anhidro (en el caso de las dietas no se requirió el uso del sulfato de magnesio anhidro). La muestra se pulverizó hasta homogenizar y se transfirió a un matraz *Erlenmeyer* de 250 mL. Posteriormente, se adicionaron 20 mL de acetona grado reactivo y se agitó durante 60 min a temperatura ambiente (para la extracción de las dietas se calentó a 55 °C). Se realizó una filtración con papel Whatman # 4 para después aforar a 20 mL con acetona. Se tomaron 1.5 mL y se filtraron con un poro de 0.22 μ m en viales ámbar para HPLC. Para la detección de los carotenoides se utilizaron cuatro estándares: zeaxantina, cantaxantina, astaxantina y β -caroteno, todos obtenidos de SIGMA-ALDRICH y preparados a una concentración de 35 mg/L. Se utilizó una fase móvil de acetona/agua (75:25 v/v) y acetona/metanol (75:25 v/v), con un gradiente lineal y un flujo de 1 mL/min, utilizando una columna SUPELCOSILTM LC-18 de 4.6 x 250mm x 5 μ m, en un cromatógrafo PERKIN ELMER, series 200 (HPLC) con detector UV-Vis a 460 nm (Akhtar *et al.*, 1999).

4.7.3. Cuantificación de ácido ascórbico

La determinación de ácido ascórbico se llevó a cabo mediante la técnica reportada por Karatepe (2004) con modificaciones. Iniciando con la técnica, primeramente se realizó la etapa de extracción, en la cual se pesaron 2 g de muestra por triplicado y se colocaron en un tubo *Falcon* de 50 mL, después se le agregaron 14 mL de ácido perclórico al 0.1 M y se homogeneizó; posteriormente se filtró la extracción en una membrana de 0.22 μ m. Por último, se prosiguió a realizar la lectura del compuesto bioactivo en un cromatógrafo de líquidos PERKIN ELMER, series 200 (HPLC) con un detector UV/Vis a 250 nm de longitud de onda, utilizando como fase móvil de fosfato monobásico de potasio 30 mM y metanol (82.5/17.5 v/v) a un flujo de 1 mL/min, en una columna Hypersil GOLD de 150 x 4.6 mm y ácido L-ascórbico como estándar de referencia.

4.8. Determinación del perfil de ácidos grasos

4.8.1. Extracción de lípidos por el método Folch

El proceso se llevó a cabo por el método de Folch y Sloanes (1957), aplicándose a las muestras de las dietas formuladas (experimentales), la dieta comercial y la pasta de aguacate. Se molieron 5 g de muestra (por triplicado) y se colocaron en un tubo *Falcon* de 50 mL, además de 25 mL de la solución de Folch (cloroformo/metanol 2:1). La mezcla se homogeneizó a 10,000 rpm durante 2 min, para después centrifugarse a 1,000 x g durante 10 min a 4°C. Una vez centrifugado, se filtró la fase líquida con papel filtro Whatman #4 en un embudo de decantación. El proceso de lavado se repitió por segunda vez bajo las mismas condiciones. En seguida se agregaron 15 mL de solución salina (NaCl al 75%) al embudo de decantación con la fase recuperada de los dos lavados, se agitó suavemente y se dejó reposar por 12 h (Figura 13A). La fase clorofórmica (fase líquida) dentro del embudo de decantación se recuperó en un matraz bola de fondo plano de 250 mL (con peso constante registrado) utilizando un embudo y papel filtro Whatman #4 con sulfato de sodio anhidro en la cantidad necesaria para cubrir la entrada del embudo (Figura 13B). Posteriormente, se evaporó el cloroformo de la muestra en un rotavapor al vacío a 40 °C. Al terminar, la grasa resultante se secó bajo corriente de gas nitrógeno. Los resultados se insertaron en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{100 (MM - MV)}{PM}$$

MM = Peso del matraz con muestra; MV = Peso del matraz vacío; PM = Peso de la muestra.

4.8.2. Metilación de ácidos grasos

El procedimiento se inició pesando 30 mg de la grasa extraída por el método de Folch, la cual se colocó en un tubo de ensayo con rosca además de 2 mL de hexano. La mezcla se agitó vigorosamente hasta disolver por completo. Posteriormente, se agregaron 200 µL de KOH 2 M en metanol y se agitó nuevamente durante 10 s para favorecer la reacción. En seguida, se dejó reposar durante 10 min a temperatura ambiente, para después centrifugar a 1,000 x g durante 5 min hasta una clarificación total. Una vez centrifugada la muestra se

recuperó la fase superior con una pipeta *Pasteur* y se depositó en un vial de 2 mL. La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo por cromatografía de gases en un equipo marca BRUKER SCION SQ 456-GC y automuestreador CombiPAL, equipado con un inyector de vaporización de temperatura programada (PTV), detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Select FAME, Agilent J&W CP7420 (100 m x 0.250 mm i. d. x 0.25 µm). La rampa de temperatura trabajada fue: temperatura inicial de 180 °C por 1 min, 235 °C a 2 °C/min y a 250 °C a 5 °C/min durante 10 min. La temperatura del inyector fue de 260 °C y del detector de 275 °C, el gas acarreador fue helio grado "Ultrapure" con un flujo de columna de 1.2 mL/min. La identificación individual de los ácidos grasos se realizó en comparación con el estándar Supelco 37 FAME Mix (CRM47885) usando Pentadecano como estándar interno (Figura 13C). Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje de área del total de ácidos grasos.

4.9. Perfiles de aminoácidos

Para este análisis se siguió la metodología reportada por Dimova (2003) con modificaciones. Se realizó un proceso de digestión de las muestras pesando 30 mg de cada una de ellas por triplicado en un tubo de ensayo. Después se agregaron 4 mL de ácido sulfúrico concentrado, se retiró el oxígeno residual del espacio de cabeza con nitrógeno gaseoso y se cerró firmemente con tapón de baquelita. Se colocaron en una placa de calentamiento (TERMO BLOCK) durante 48 h a 110 °C, para posteriormente neutralizarse con NaOH 6N (pH 6.8-7.2), retirarse y aforar a 50 mL con agua grado HPLC. La derivatización y determinación analítica se realizó según Vázquez-Ortiz *et al.* (1995) y de acuerdo a sus condiciones cromatográficas. Se utilizó una columna VARIAN Pursuit 5 C18 (150 x 4.6 mm) en fase reversa, con un detector de fluorescencia a una longitud de onda de 340 y 455 para la excitación y emisión, respectivamente. Para la identificación y cuantificación utilizaron un estándar con una mezcla de 15 aminoácidos y un estándar interno (ácido α -aminobutírico), todos a una concentración de 0.1 µM.

4.10. Puntaje químico de aminoácidos

Se realizó el cálculo del puntaje químico (traducido del inglés "chemical score"), para lo cual, en cada una de las dietas se determinó la relación de los aminoácidos esenciales

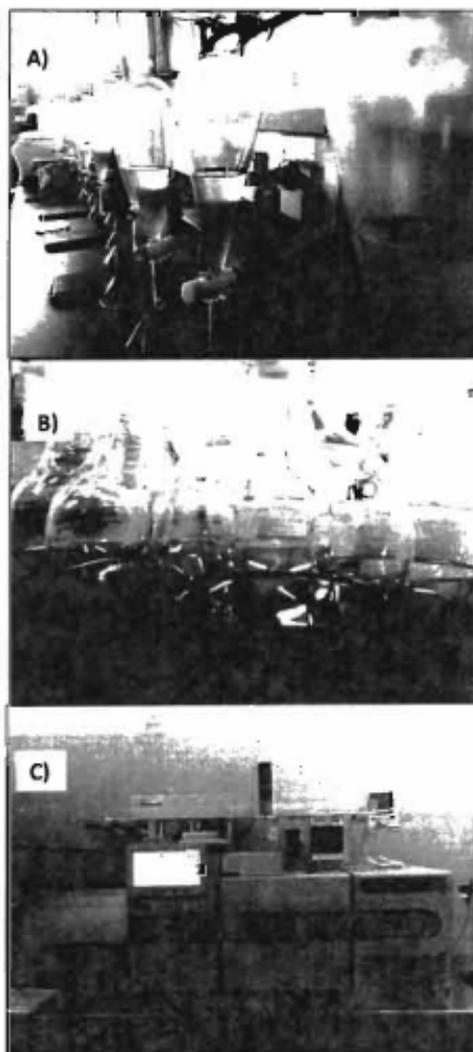


Figura 13. A) Embudos de decantación con la muestra de las dietas experimentales; B) Matraces con grasa y cloroformo.

en la proteína en estudio (dietas experimentales), con respecto a la proteína de referencia de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{mg del aminoácido esencial presente en un g de proteína en estudio}}{\text{mg de aminoácido esencial en un g de proteína de referencia}} \times 100$$

4.11. Análisis de resultados

Los datos fueron analizados de acuerdo a un diseño completamente al azar, sometiendo los resultados a un análisis de varianza (ANOVA) univariado, tomando como factor principal los 5 tipos de dieta (incluyendo la comercial). Cuando se encontraron diferencias significativas, se realizó una prueba de comparación de medias por el método de Tukey, tomando en cuenta un nivel de significancia de 5% ($P < 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el software IBM SPSS statistics 2.0.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Composición químico-proximal de los insumos

En la Tabla 6 se muestra la composición proximal de los insumos utilizados para la elaboración de las dietas experimentales, destacando que los de naturaleza proteica fueron la gretina, gluten y harina de pescado, con 84.04, 65.00 y 55.92% de proteína, respectivamente. Así mismo, los insumos con mayor contenido lipídico fueron el aceite de pescado (97.57%), seguido de la pasta de aguacate (PA) con un porcentaje de 13.81, el cual es cercano a lo reportado por Hernández-López (2016) en PA en la que incluyen la pulpa, cáscara y semilla (14.16%).

5.2. Formulación de las dietas experimentales

La formulación se llevó a cabo utilizando una hoja de cálculo creada en el programa Excel. En la Tabla 7 se presenta el ajuste y contenido porcentual de cada uno de los insumos utilizados para la elaboración de la dieta base y las dietas con inclusión de pasta de aguacate. Las diferentes inclusiones de pasta de aguacate (10, 20 y 30%) se ajustaron de acuerdo al aporte máximo de lípidos y mínimo de proteína, sin excluir por completo el aceite de pescado. También se tomó en cuenta que la mezcla final tuviera una textura firme y consistente, necesaria para llevarse a cabo la peletización. Dichas dietas se balancearon con un contenido proteico al 35% y 10% de lípidos, esto de acuerdo a los requerimientos nutricionales que demandan los juveniles de tilapia *O. niloticus*.

5.3. Composición químico-proximal de las dietas experimentales

En la Tabla 8 se muestran los resultados del análisis proximal de la dieta comercial (WINFISH, DC), dieta base (DB) y las dietas con inclusión de pasta de aguacate (D10, D20 y D30). En dicha tabla no se reflejan diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) en el porcentaje de los principales componentes: proteína y lípidos. Todas las dietas se encuentran alrededor de 35% y de 10% de proteína y lípidos, respectivamente, lo que corrobora la efectividad del balanceo aplicado a los ingredientes y que cubren los requerimiento nutritivos que demandan los juveniles de tilapia *O. niloticus* (SAGARPA, 2013; Bhujel, 2002; Bureau y Cho, 1994).

Tabla 6. Composición proximal de los insumos utilizados en la elaboración de las dietas experimentales en base húmeda (%).

Insumo	Humedad	Proteínas	Lípidos	Cenizas
HT	12.71 ± 0.19	13.02 ± 0.28	1.80 ± 0.03	0.60 ± 0.02
HS	10.55 ± 0.04	43.05 ± 0.28	0.55 ± 0.07	6.19 ± 0.17
HP	12.03 ± 0.25	55.92 ± 0.11	2.10 ± 0.08	18.94 ± 0.07
GR	11.04 ± 0.29	84.04 ± 0.48	0.08 ± 0.01	1.89 ± 0.04
GL	8.53 ± 0.18	65.00 ± 0.17	1.44 ± 0.20	0.80 ± 0.05
AP	0.92 ± 0.48	-	97.57 ± 0.37	-
PA	70.93 ± 0.22	1.37 ± 0.01	13.81 ± 0.20	4.25 ± 0.32

HT: harina de trigo; HS: Harina de soya; HP: harina de pescado; GR: Grelatina; GL: Gluten; AP aceite de pescado y PA: pasta de aguacate. Los valores presentan la media y la desviación estándar de n=3.

Tabla 7. Formulación de la dieta base (DB) y dietas con inclusión de pasta de aguacate al 10, 20, 30% (D10, D20 y D30).

Insumos (g)	Dietas experimentales			
	DB	D10	D20	D30
Harina de Trigo	40.40	34.20	31.70	26.05
Pasta de Soya	19.10	19.40	14.30	12.80
Harina de Pescado ^d	21.70	21.40	21.10	20.80
Gluten	5.00	5.00	5.00	5.00
Aceite de Pescado ^c	11.30	7.50	5.40	2.85
Grenetina	1.50	1.50	1.50	1.50
Pasta de Aguacate	0.00	10.00	20.00	30.00
Vitaminas Premix ^a	0.50	0.50	0.50	0.50
Minerales Premix ^b	0.50	0.50	0.50	0.50

^a Pre-mezcla de vitaminas: Vitamina A, 536 KUI/kg; Vitamina D₃, 133.5 KUI; Vitamina E, 6,666.5 mg; Vitamina K₃, 666.862 mg; Vitamina B1, 1,000.04 mg; Vitamina B₂, 1,000 mg; Vitaminas B₆, 1,333.32 mg; Vitamina B₁₂, 1.33 mg; Vitamina C, 10,000.2 mg; Niacina, 5,334.195 mg; Ácido pantoténico, 2,666.7 mg; Ácido fólico, 332.8 mg; Biotina, 33.3 mg; Cloruro de colina, 40,020.6 mg. DSM Nutritional Products México S. A. de C. V.

^b Pre-mezcla de minerales: Cobre, 46 mg/kg; Hierro, 133.44 mg; Manganeso 282.56 mg; Cobalto, 4.15 mg; Yodo, 20.6 mg; Zinc, 871.56 mg; Selenio, .5 mg; Magnesio, 282.56 mg. DSM Nutritional Products México S. A. de C. V.

^c (Maz Industrial S.A de C.V: Mazatlán, Sinaloa).

Tabla 8. Composición proximal de las distintas dietas experimentales (%).

Dietas	Humedad	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Fibra	pH
DC	7.94 ± 0.07 ^a	35.34 ± 0.41 ^a	9.40 ± 0.24 ^a	9.75 ± 0.06 ^b	5.70 ± 0.45 ^a	6.13 ± 0.00 ^{ab}
DB	6.14 ± 0.10 ^c	36.11 ± 0.25 ^a	9.83 ± 0.07 ^a	7.77 ± 0.28 ^b	1.23 ± 0.13 ^b	6.32 ± 0.01 ^a
D10	6.61 ± 0.19 ^b	36.40 ± 0.21 ^a	9.60 ± 0.12 ^a	7.62 ± 0.11 ^b	1.68 ± 0.38 ^b	6.15 ± 0.02 ^b
D20	5.66 ± 0.21 ^c	35.78 ± 0.45 ^a	9.54 ± 0.24 ^a	7.92 ± 0.01 ^b	2.03 ± 0.04 ^b	6.15 ± 0.01 ^b
D30	5.48 ± 0.17 ^c	36.42 ± 0.29 ^a	9.87 ± 0.08 ^a	8.53 ± 0.14 ^b	2.50 ± 0.20 ^b	6.10 ± 0.01 ^c

*DC: Dieta comercial. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate, respectivamente.

**Los valores representan la media y desviación estándar (n=3). Medias en la misma columna con distinto superíndice son estadísticamente diferentes (p<0.05).

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL BAHARÓ



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

En el caso de la fibra, esta se determinó debido a los altos porcentajes que presentan los insumos utilizados en la formulación del alimento, principalmente la cáscara del aguacate, la cual se incluyó en la elaboración de la pasta. Normalmente la fibra es considerada indigerible, pues la tilapia no posee las enzimas requeridas para su digestión, sin embargo, es conocido que el aporte de fibra en las dietas es indispensable para modular el tránsito del alimento por el tracto gastrointestinal y facilitar la absorción de los nutrientes. Además, se ha encontrado cierta actividad de celulasas de microorganismos pertenecientes al intestino de la *O. mossambica* (Saha *et al.*, 2006). Por tal motivo, de acuerdo a lo que indica SAGARPA (2009), los niveles de fibra cruda en un alimento para consumo de la especie tilapia no debe ser mayor al 5%. Es importante señalar que las dietas formuladas no superan el nivel máximo de composición de fibra cruda, a diferencia de DC. Así mismo, la dieta comercial fue la que presentó mayor porcentaje de cenizas, esto depende de la harina de pescado que se utilice y también de la cantidad de minerales que se agreguen durante la elaboración de las dietas comerciales, de los cuales se desconoce su porcentaje de inclusión por confidencialidad de las fórmulas. Está documentado que las harinas de pescado llegan a tener entre 10 a 20% de cenizas, sin embargo, cuando la cenizas es superior del 23%, la calidad de aminoácidos de la proteína es probablemente disminuida al igual que su digestibilidad (Romero *et al.*, 1994). Por lo tanto, la harina de pescado no representa un riesgo en las dietas elaboradas en el presente estudio, ya que el porcentaje de cenizas es de 18% y su inclusión va disminuyendo conforme aumenta el nivel de inclusión de PA.

Por otro lado, la medición de pH presentó diferencias significativas ($p < 0.05$), las cuales pueden deberse a una ligera fermentación observada en la pasta de aguacate, pero en pruebas preliminares de uso, se observó que la condición no compromete la aceptabilidad de la dieta por los organismos.

5.4. Actividad antioxidante de las dietas y la pasta de aguacate

5.4.1. Actividad anti-radical 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH•)

De acuerdo a los análisis realizados, la pasta de aguacate (PA) presentó una actividad anti-radical de $5.14 \pm 0.04 \mu\text{mol ET/g}$ de muestra, esto por la presencia de compuestos como: carotenoides, tocoferoles, tocotrienoles y fenólicos, los cuales están presentes en

mayor proporción en la cáscara (Figura 14) (Wang *et al.*, 2010). Así mismo, la capacidad antiradical de la PA resultó ser tres veces mayor a lo reportado por Moreno *et al.* (2014) y Wang *et al.* (2010) en pulpa de aguacate "Hass", quienes reportaron $1.65 \pm 4.36 \mu\text{mol ET/g}$ y $1.3 \pm 0.2 \mu\text{mol ET/g}$, respectivamente. Esta diferencia puede atribuirse principalmente a la adición de la cáscara del mismo fruto a la pasta, ya que estudios previos han comprobado que tanto la cáscara como la semilla de aguacate presentan una actividad anti-radical mayor a la pulpa (Daiuto *et al.*, 2014; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Así mismo, las dietas formuladas presentaron diferencias significativas entre ellas ($p < 0.05$), ya que muestran un aumento en su actividad anti-radical proporcional a la inclusión de la PA (Figura 14). De acuerdo a esto, D30 presentó la mayor actividad y DB la menor, con valores de 4.92 ± 0.10 y $1.65 \pm 0.11 \mu\text{mol ET/g}$, respectivamente. A pesar de los valores bajos encontrados en DB, estos se pueden considerar aceptables y atribuirse al contenido de compuestos bioactivos que aportan los insumos utilizados para su elaboración (harina de soya, harina de trigo, pre-mezcla de vitaminas, etc.). Sedej *et al.* (2010), afirman que la harina de trigo posee inhibidores de radicales con la posibilidad de actuar como antioxidantes primarios, esto por medio del análisis de reducción de radicales DPPH. Bolanho y Beléia (2011) evaluaron la cantidad de compuestos bioactivos en soya y productos derivados tales como las isoflavonas y antocianinas, las cuales a pesar de ser poco activas en el análisis de DPPH, pueden presentar valores considerables (Xu y Chang, 2008).

Cabe resaltar que no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) entre D30 y DC, donde la actividad anti-radical de esta última puede atribuirse a la adición de antioxidantes sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA) y etoxiquina (EQ), los cuales presentan una alta actividad antioxidante (Lundebye *et al.*, 2010). En el caso de la pasta, la cual se agregó a las gráficas de resultados a manera de comparación, se esperaría que esta presentara una actividad antioxidante mayor en comparación de las dietas experimentales. Sin embargo, hay que considerar en este y todos los análisis posteriores, que los valores mostrados para PA hacen referencia al subproducto fresco, en comparación con las dietas que presentan una baja humedad.

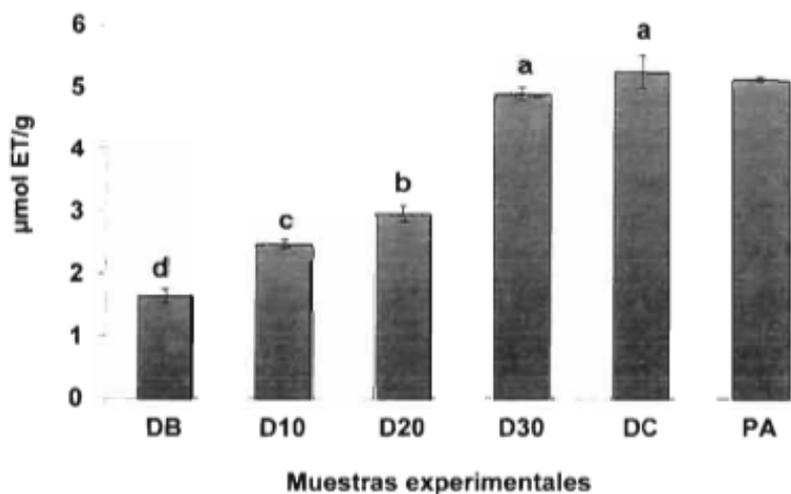


Figura 14. Capacidad de atrapamiento del radical libre DPPH[•] de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

5.4.2. Atrapamiento del catión ácido-1,1'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS^{•+})

En la Figura 15 se presentan los resultados de esta prueba, donde se observa que el extracto de PA tuvo la mayor capacidad de atrapamiento de este catión, con un valor de 78.13 ± 0.41 mmol ET/kg, el cual es mayor a lo reportado en pulpa de la variedad "Hass" por Pellegrini *et al.* (2017) y Sánchez (2014), con 3 y 2.22 mmol ET/kg, respectivamente. Esto puede atribuirse a la incorporación de la cáscara a la pasta, ya que se ha reportado una actividad de atrapamiento de este catión de 74.06 mmol ET/kg para este tejido del mismo fruto (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Dicha actividad está relacionada con la concentración de compuestos lipofílicos e hidrofílicos, principalmente carotenoides, tocoferoles, compuestos fenólicos y procianidinas que se encuentran en tejidos del aguacate (Wang *et al.*, 2010). De este modo, el comportamiento de las dietas formuladas y elaboradas en el laboratorio muestran un máximo aumento en la capacidad de atrapamiento de ABTS^{•+} en D30, con un valor de 8.23 ± 0.22 mmol ET/kg, ya que el incremento de PA promueve a su vez un aumento con respecto a los posibles compuestos bioactivos presentes y que actúan como antioxidantes.

Por su parte, no hubo un aumento significativo ($p > 0.05$) al comparar DB y D10. Como ya se ha mencionado, la actividad de la DB puede atribuirse al contenido de compuestos bioactivos en los insumos utilizados para su elaboración. De acuerdo con Lv *et al.* (2012), los ensayos de ABTS^{•+} aplicados a harina de trigo están altamente relacionados con los compuestos fenólicos, tocoferoles y carotenoides del insumo.

Por su parte, la harina de soya también promueve la capacidad antioxidante, principalmente por su concentración de compuestos fenólicos, al igual que la vitamina C presente en la pre-mezcla de vitaminas (Coscueta *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2002). Cabe resaltar que la actividad de atrapamiento de ABTS^{•+} para DC fue mayor a las dietas formuladas, esto debido a los antioxidantes fenólicos sintéticos (muchas veces no declarados) o a la concentración de análogos sintéticos por ejemplo de la vitamina E.

5.5. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a ion Fe (II) (Método FRAP)

De acuerdo al análisis realizado (Figura 16), la PA fue la de mayor capacidad de reducción del ion Fe (III) con un valor de 20 ± 0.24 μ mol ET/g de muestra. Dicha capacidad se puede atribuir principalmente a la presencia de compuestos fenólicos y ácido ascórbico en el fruto

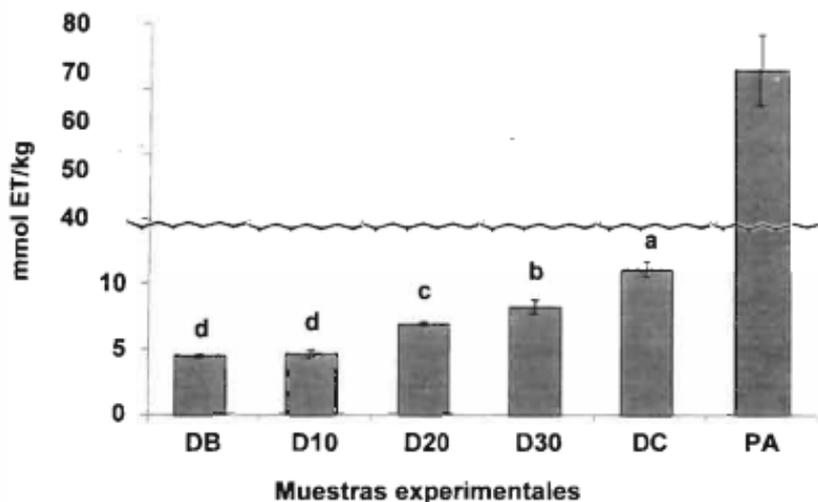


Figura 15. Capacidad de atrapamiento del radical libre $ABTS\cdot$ de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30%: Dietas formuladas con 10, 20 y 30 de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

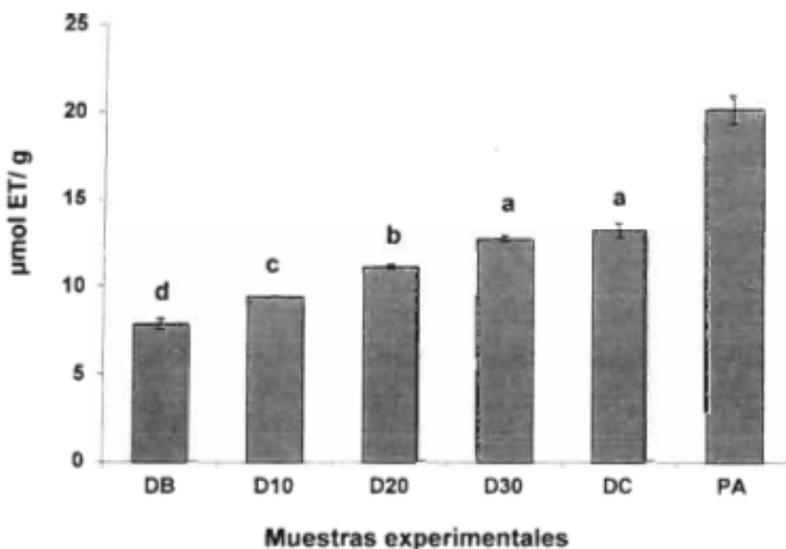


Figura 16. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a ion Fe (II) de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

(Wang *et al.*, 2012; 2010). De acuerdo con estudios previos, se han reportado valores aproximados a 20 y 28 $\mu\text{mol ET/g}$ en pulpa de aguacate "Hass" (Moreno *et al.*, 2014; Gorinstein *et al.*, 2011), los cuales son similares a lo reportado en PA. Por su parte, las dietas formuladas se vieron afectadas positivamente ($p < 0.05$), presentando un incremento en su capacidad de reducción según el nivel de inclusión en la formulación. Es por ello que D30 registró la mayor capacidad reductora, con un valor de $12.77 \pm 0.15 \text{ mg ET/g}$, mientras que DC presentó un valor de $13.26 \pm 0.42 \text{ mg ET/g}$, el cual no reflejó una diferencia significativa ante D30. Esto puede atribuirse a la concentración no conocida de compuestos antioxidantes que presentan estructuras fenólicas, tales como el BHA, BHT o TBHQ, que tienen una alta capacidad de reducción (Barreto *et al.*, 2014).

5.6. Determinación de compuestos bioactivos

5.6.1. Análisis de compuestos fenólicos totales

Los resultados del ensayo realizado se presentan en la Figura 17, donde se observa que PA presenta la mayor concentración de compuestos fenólicos, con un valor de $20.91 \pm 0.28 \text{ mg EAG/g}$ de muestra. Esta concentración es 15-20 veces mayor a lo reportado por Wang *et al.* (2012), Moreno *et al.* (2004) y Daiuto *et al.* (2004), quienes reportaron en pulpa de aguacate "Hass" 5.82, 3.3 y 1.2 mg EAG/g , respectivamente. Lo anterior es atribuible a la inclusión de la cáscara del mismo fruto en PA, ya que se ha reportado una concentración mayor en subproducto de aguacate entero que en pulpa (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Un ejemplo, es lo reportado por Daiuto *et al.* (2004), quienes determinaron una concentración de 63.5 mg EAG/g en cáscara y 57.3 mg EAG/g en semilla. En este contexto, las dietas formuladas presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), ya que muestran en su concentración un aumento proporcional a la inclusión de la PA, por lo que D30 presentó una concentración mayor ($12.58 \pm 0.11 \text{ mg EAG/g}$) a lo encontrado en DB ($8.75 \pm 0.02 \text{ mg EAG/g}$). A pesar de que PA no se incluyó en la formulación de DB, su concentración de compuestos fenólicos es considerable y puede atribuirse al contenido de estos en los insumos utilizados durante la elaboración, tales como: la harina de soya, la harina de trigo o el pre-mezcla de vitaminas. Devi *et al.* (2009) reportaron una concentración de alrededor de 23 mg EAG/g en harina de soya, el cual explican se debe principalmente a la presencia de

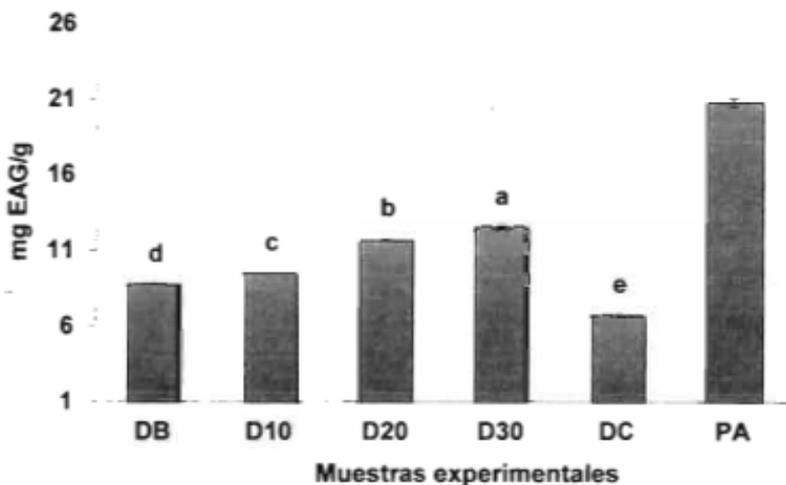


Figura 17. Concentración de compuestos fenólicos totales de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

compuestos de la familia de las isoflavonas. Así mismo, Lv *et al.* (2012) reportaron una concentración máxima de 2 mg EAG/g en harina de trigo, atribuyéndolo principalmente al ácido felúrico y tocoferoles presentes en la misma. Por otro lado, aunque DC presentó una concentración menor a las dietas formuladas restantes, la considerable concentración de compuestos fenólicos puede atribuirse al BHT, BHA, BHQT, que son compuestos de tipo fenólico sintéticos incluidos normalmente en las dietas comerciales (Lundebye *et al.*, 2010).

5.6.2. Concentración de tocoferoles

De acuerdo a las Figuras 18, 19 y 20, PA presentó la mayor concentración de α -, γ - y δ -tocoferol con 139.89 ± 1.93 , 3.90 ± 0.10 y 2.30 ± 0.07 mg/kg de muestra, respectivamente. Este insumo ha sido poco documentado, sin embargo se han llevado a cabo algunos estudios donde se cuantificó la concentración de los mismos en la pulpa de aguacate y sus subproductos (cáscara y semilla). Chun *et al.* (2006) reportaron en pulpa de aguacate "Hass" 95.1, 6.90 y 0.30 mg/kg de muestra de α -, γ - y δ - tocoferol, respectivamente. Dichos valores son menores a lo cuantificado en la PA del presente trabajo, con excepción del γ -tocoferol. Cabe mencionar que la concentración de tocoferoles y otros compuestos bioactivos presentes en el fruto varían por las condiciones de cosecha y maduración del mismo, entre otros factores (Lu *et al.*, 2009).

Las dietas formuladas mostraron un incremento proporcional en la concentración de tocoferoles de acuerdo a la inclusión de PA, de tal modo que D30% presentó el valor mayor de α -, γ - y δ -tocoferol con 125.76 ± 2.22 , 0.50 ± 0.02 y 0.55 ± 0.03 mg/kg, respectivamente. Por otro lado, DB presentó la menor concentración de tocoferoles entre las dietas, en donde el α -tocoferol predominó con un valor de 52.82 ± 1.38 mg/kg. Dicho valor puede atribuirse a la presencia de este compuesto en los insumos utilizados para su elaboración, como son la harina y aceite de pescado, harina de trigo y el aporte proveniente de la vitamina E presente en la pre-mezcla de vitaminas (Halver, 1985; Lv *et al.*, 2012). Así mismo, en DC es común que se incluya acetato de α -tocoferol, debido a que es biotransformada en α -tocoferol, facilitando su acumulación en diversos tejidos de las especies alimentadas. No obstante, para fines del presente estudio, el análisis realizado está enfocado a identificar tocoferoles en su forma simple. Cabe mencionar que se ha reportado un adecuado aumento de peso y eficiencia de proteínas en tilapia roja alimentada con dietas con 46.93 mg/kg de α -tocoferol

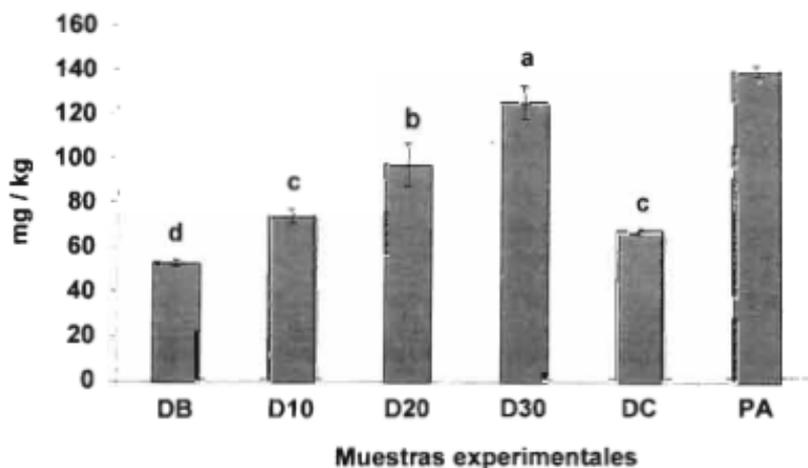


Figura 18. Concentración de α -tocoferol de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

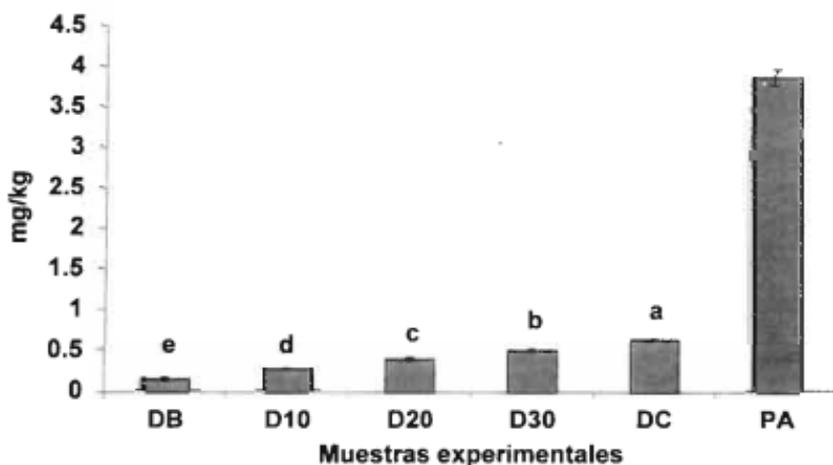


Figura 19. Concentración de γ -tocoferol de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

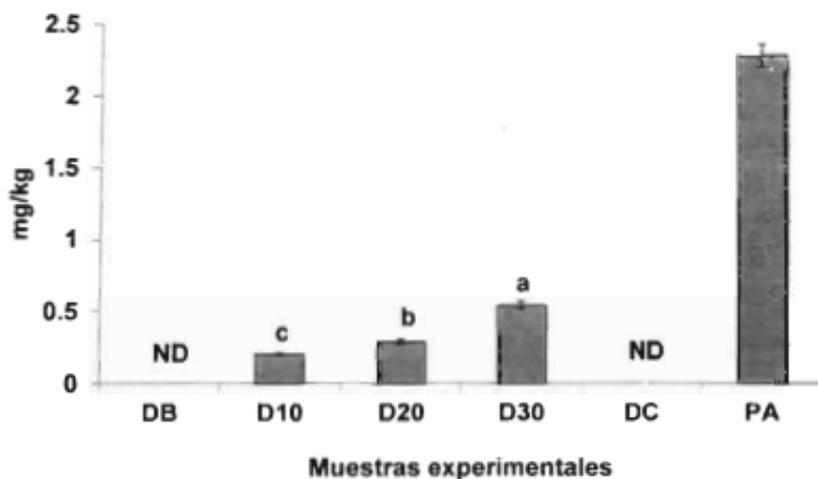


Figura 20. Concentración de δ -tocoferol de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

(Ng *et al.*, 2006). Por su parte, Shiao y Shiao (2001), reportaron como concentración óptima para tilapia 42-44 y 60-66 mg de α -tocoferol/kg de dieta, cuando esta contenga 5 y 12% de lípidos, respectivamente. Con lo anterior, se puede inferir que las dietas elaboradas en el presente estudio sobrepasan las concentraciones mínimas de α -tocoferol/kg para un buen desarrollo de la especie. Cabe mencionar que al incluir una fuente de compuestos bioactivos en la fórmula de un alimento acuícola, existen diferencias en la concentración final de dichos compuestos en la dieta final, lo cual depende de la procedencia y su grado de pureza. Sin embargo con el interés de disminuir costos de elaboración y el uso de compuestos orgánicos, el estudio se enfoca en aprovechar fuentes naturales de vitamina E (tocoferoles), para aprovechar sus funciones en la conservación de fosfolípidos, mejorar el sistema inmune en episodios de estrés oxidativo y favorecer el metabolismo de ácidos grasos insaturados en el organismo que lo consume (Sayago *et al.*, 2007).

5.6.3. Concentración de carotenoides

Durante el análisis no se detectaron concentraciones de cantaxantina y astaxantina, por lo que solo se reportaron β -caroteno y zeaxantina. En las Figuras 21 y 22 se presenta PA como la muestra experimental con mayor concentración de carotenoides, con valores de 52.65 ± 0.34 mg/kg de β -caroteno y 24.13 ± 0.87 mg/kg de zeaxantina. Hoy en día, la elaboración y utilización de una PA incluyendo la cáscara del fruto no ha sido documentada, por lo que hasta el momento no se encuentra información para efectos de comparación con respecto a estos compuestos. Se han realizado estudios enfocados en la determinación de carotenoides en la pulpa, cáscara y semilla de manera individual y en diferentes variedades del fruto. Poovarodom *et al.* (2010) reportaron en pulpa de aguacate una concentración de 20 mg/kg de β -caroteno, mientras que Lu *et al.* (2009) cuantificaron alrededor de 1mg/kg de β -caroteno y 0.17 mg/kg de zeaxantina en pulpa de la variedad "Hass". En el caso de la cáscara, Ashton *et al.* (2006), reportaron aproximadamente 14 mg/kg de β -caroteno y 1 mg/kg de zeaxantina en la variedad "Hass". Al comparar la concentración de carotenoides de PA con lo reportado en estudios previos, es importante mencionar nuevamente que la variabilidad de la concentración de compuestos bioactivos es debido a las condiciones de poscosecha, como el lugar y la temporada de corte del fruto, así también como el tiempo

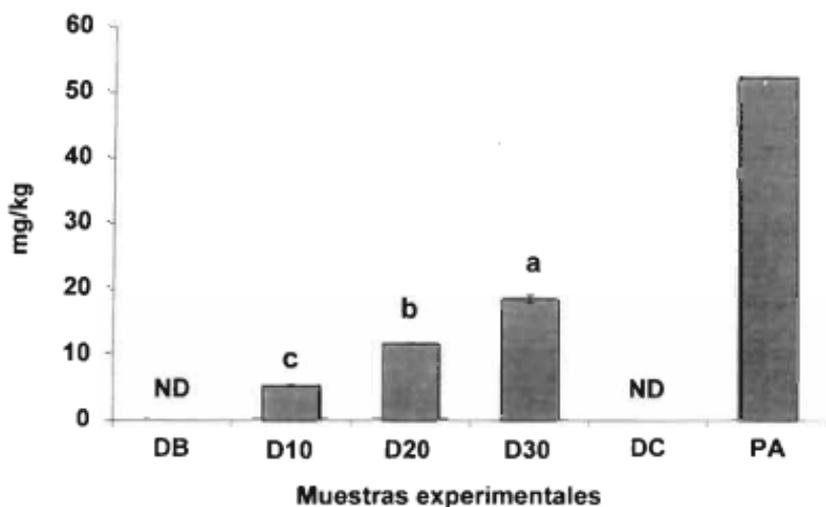


Figura 21. Concentración de β -caroteno de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

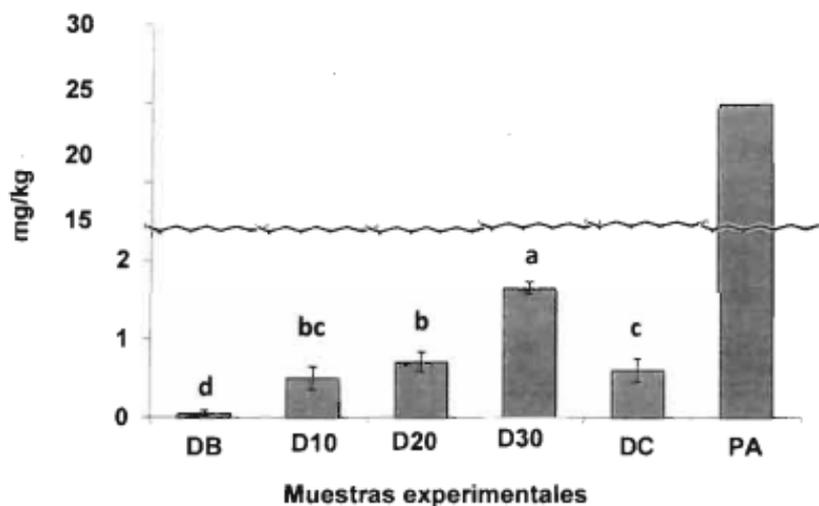


Figura 22. Concentración de zeaxantina de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

(días) y temperatura de maduración, entre otros factores (Lu *et al.*, 2009). Por otro lado, en las dietas formuladas se observa un incremento significativo en la concentración de carotenoides proporcional a la inclusión de PA, lo cual coloca a D30 como la dieta con mayor concentración de estos compuestos con 18.27 mg/kg de β -caroteno y 1.65 mg/kg de zeaxantina. De acuerdo con estudios previos, Kurnia *et al.* (2015) implementaron dietas para trucha arcoiris con inclusión de 30 mg/kg de astaxantina sintética, cuantificando 29.4 mg/kg en la dieta final, así mismo se elaboró una segunda dieta con una inclusión de 750 mg/kg de extracto de la bacteria marina *Paracoccus spp.*, reportando 38.5 mg/kg de astaxantina. Lo anterior muestra una diferencia de valores y rendimiento en la concentración final de astaxantina, esto debido a la procedencia y el grado de pureza del compuesto o fuente utilizada. Por otro lado, DB y DC solo presentaron concentraciones de zeaxantina, donde DB mostró un valor de 0.5 mg/kg y DC 0.6 mg/kg. Ambos valores fueron menores a lo reportado por Kurnia *et al.* (2015) en una dieta control (2.31mg/kg) y Katsuyama y Matsuno (1988) en alimento balanceado comercial para tilapia nilótica (2.66 mg/kg). La elaboración de dietas con aporte de carotenoides no se aplica frecuentemente para tilapia, ya que no acumulan grandes cantidades de pigmentos, sin embargo requiere de un suministro adecuado para promover un mejor desarrollo y evitar padecimientos, deficiencias o alteraciones en células de distintos tejidos, como se menciona en el estudio de Katsuyama y Matsuno (1988). El aporte de carotenoides en peces es importante ya que no son capaces de sintetizarlos de novo, los cuales protegen frente a la oxidación de los ácidos grasos insaturados en el filete y contribuyen a evitar enfermedades y trastornos por estrés oxidativo durante el cultivo (Valavanidis *et al.*, 2006).

5.6.4. Concentración de ácido ascórbico

En la Figura 23 se puede observar la concentración de ácido ascórbico en cada una de las muestras experimentales, donde PA mostró el valor más alto con 214.72 ± 2.68 mg/kg de muestra. Ruggieri *et al.* (1995) reportaron en pulpa una concentración de 28 mg/kg, mientras que Wang *et al.* (2010) y Tesfay *et al.* (2010) obtuvieron valores de 19.6 y 122.42 mg/kg respectivamente, en aguacate de la variedad "Hass". En contraste con los estudios anteriores, se puede observar que la concentración de PA es mayor, esto pudiera deberse

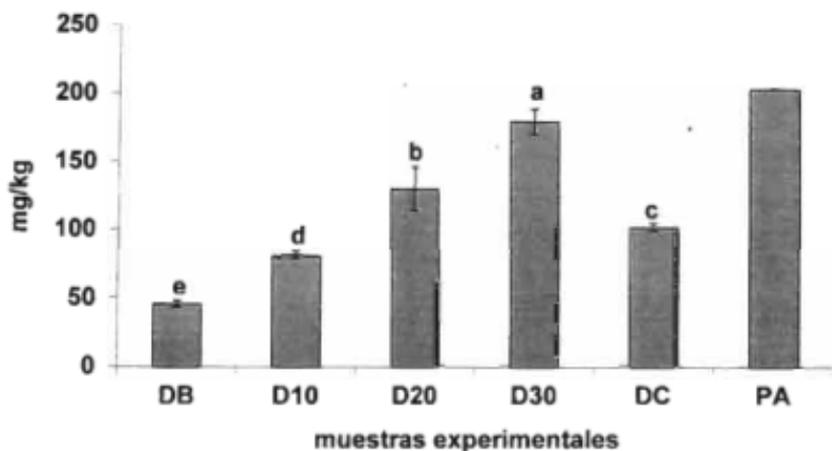


Figura 23. Cuantificación de ácido ascórbico de las distintas dietas experimentales y la pasta de aguacate (PA). Las barras muestran el promedio y desviación estándar de 3 réplicas. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate y DC: Dieta comercial, respectivamente. Literales distintas en las barras indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

principalmente al lugar del cultivo de fruto y la temporada en que es cosechado, además de otros factores de poscosecha y maduración. En el caso del lugar de cultivo, Wang *et al.* (2010) obtuvieron el fruto de en un huerto de Inrvine, Estados Unidos, mientras que Tesfay *et al.* (2010), al sur de África.

Con respecto a las dietas formuladas, se puede inferir que el aumento proporcional de la concentración de ácido ascórbico se presenta de acuerdo al porcentaje de la inclusión de PA en su formulación. Por ende, D30 presenta la mayor concentración con un valor de 179.77 ± 2.46 mg/kg, mientras que DB presenta la menor con un valor de 45.19 ± 2.48 mg/kg. Numerosos estudios han puesto de manifiesto la importancia de tener el aporte adecuado de ácido ascórbico en dietas para especies acuícolas. Un ejemplo de ello es el estudio de Navarro *et al.* (2010), los cuales estimaron que una concentración de 50 mg/kg de ácido ascórbico en alimento promueve un desempeño productivo y satisfactorio de tilapia. Del mismo modo, Li *et al.* (2010) reportaron un mínimo de 100 mg/kg para asegurar el buen desarrollo de la especie, además de promover la respuesta inmune y resistencia a *Streptococcus iniae*. De acuerdo a lo anterior, al incluir PA en una formulación básica acuícola se puede asegurar una concentración de ácido ascórbico que cumpla con los requerimientos de la especie en cuestión.

5.7. Extracción de lípidos por el método Folch

Para llevar a cabo la determinación de ácidos grasos se realizó la extracción de lípidos a cada una de las dietas experimentales por el método de Folch (1957), cuyos resultados se muestran en la Tabla 9. Es importante mencionar que los porcentajes de lípidos de la tabla anterior son menores en comparación a los resultados expuestos en la composición proximal de la pasta de aguacate y dietas formuladas (Tabla 6 y 8). Es conocido que el método de Folch subestima sistemáticamente concentraciones en las muestras que contienen más de 2% de lípidos, comparado con el método Soxhlet (Caprioli *et al.*, 2015; Segura, 2015; Axelsson y Gentili, 2014). Sin embargo, se utilizó esta técnica, ya que se considera el método más adecuado para la recuperación de los lípidos totales, donde se obtienen ácidos grasos estables debido a que no se aplica temperatura durante la extracción.

Tabla 9. Composición lipídica de las dietas experimentales (%).

Dietas	Lípidos
DC	7.61 ± 0.08
DB	8.65 ± 0.39
D10	7.96 ± 0.04
D20	7.49 ± 0.28
D30	8.28 ± 0.45
PA	12.55 ± 0.85

DC: dieta comercial, DB: dieta base (0%), D10, D20 y D30: dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate, respectivamente y PA: pasta de aguacate. Promedio ± desviación estándar de 3 réplicas.

5.8. Determinación del perfil de ácidos grasos

5.8.1 Perfil de ácidos grasos de la pasta de aguacate

Las Tablas 10 y 11 muestran los resultados obtenidos en el análisis del perfil de ácidos grasos en PA por medio de cromatografía de gases. Su composición estuvo conformada principalmente de ácido oleico (18:1, AO) con alrededor de 42% del contenido total de lípidos de ácidos grasos. Además, presentó una composición de acuerdo al porcentaje de área relativa de AP, AL, ácido palmitoleico (16:1, APL) de 25.5, 16 y 14%, respectivamente. Cabe resaltar que el ácido linoleico es importante en la alimentación de peces de agua cálidas, debido a que interviene en la biosíntesis de ácidos grasos esenciales de cadena larga, como ácido araquidónico principalmente. Este es el principal precursor de prostaglandinas, leucotrienos y sustancias hormonales de actividad parácrina importantes en la respuesta fisiológica al estrés y en los procesos de coagulación y anti-inflamación. También se cuantificaron ácidos grasos en cantidades trazas, en una proporción menor al 1%, como el ácido γ -linoléico (C18:3) y esteárico (C18), entre otros. Hernández-López (2016) obtuvo principalmente ácido oleico, palmítico, linoleico y palmitoleico con 33.6, 30.6, 18.1 y 14.1%, respectivamente en PA elaborada con pulpa, cáscara y semilla. La diferencia entre proporciones puede atribuirse a la inclusión de la semilla en una de las pastas, ya que de acuerdo con Bressani (2006), esta aporta un 3.88% de lípidos compuestos principalmente de ácido palmítico. Es importante mencionar que la composición del fruto varía especialmente de acuerdo a la región y lugar en donde se cosecha, además de las condiciones de maduración y almacenamiento. Por otro lado, se obtuvo una proporción mayor de ácidos grasos insaturados con un 73.44% del total de lípidos que saturados con un 26.5%. Lo anterior podría favorecer la elaboración de un alimento con un alto contenido de AGPI de cadena larga, los cuales actúan promoviendo la salud de la especie en estudio.

5.8.2 Perfil de ácidos grasos en dietas experimentales

De acuerdo a la Tabla 10, se puede inferir que la mayoría de las dietas formuladas se vieron afectadas significativamente ($p < 0.05$) con respecto al aumento en la inclusión de pasta aguacate (PA). De tal modo, puede observarse que la relación AGI/AGS fue incrementando, siendo la D30 la de mayor valor (1.65). Este comportamiento es reportado

Tabla 10. Perfil de ácidos grasos de las dietas.

(%)	PA	DB	D10	D20	D30	DC
C12	0.12±0.00	0.29 ^{bc} ±0.07	0.20 ^b ±0.00	0.15 ^{bc} ±0.01	0.10 ^c ±0.00	0.08 ^c ±0.01
C13	<LOD	0.06 ^a ±0.02	0.06 ^b ±0.00	0.04 ^{bc} ±0.00	0.03 ^c ±0.00	0.02 ^c ±0.00
C14	0.07±0.00	10.09 ^a ±1.49	7.39 ^b ±0.07	5.43 ^c ±0.10	3.30 ^d ±0.06	2.47 ^e ±0.11
C14:1	<LOD	0.10 ^a ±0.01	0.07 ^b ±0.00	0.05 ^b ±0.01	0.03 ^c ±0.00	0.22 ^a ±0.00
C15	0.02±0.00	1.05 ^a ±0.08	0.80 ^b ±0.01	0.60 ^c ±0.01	0.36 ^d ±0.00	0.37 ^c ±0.01
C15:1	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD
C16 (AP)	25.53±0.28	26.42 ^a ±0.07	25.74 ^{ab} ±0.04	25.33 ^b ±0.22	25.93 ^{ab} ±0.04	22.39 ^c ±0.28
C16:1 (APL)	14.07±0.12	9.02 ^c ±0.56	9.59 ^{bc} ±0.04	10.12 ^b ±0.03	11.47 ^a ±0.12	4.20 ^d ±0.08
C17	0.02±0.00	1.44 ^a ±0.03	1.14 ^b ±0.01	0.83 ^c ±0.01	0.48 ^d ±0.00	0.73 ^b ±0.02
C17:1	0.11±0.12	0.27 ^a ±0.01	0.23 ^b ±0.00	0.20 ^c ±0.01	0.16 ^d ±0.01	0.30 ^a ±0.02
C18	0.56±0.00	6.86 ^a ±0.45	5.61 ^b ±0.05	4.75 ^c ±0.71	2.83 ^d ±0.04	7.74 ^a ±0.04
C18:1 (AO)	41.94±0.41	9.09 ^a ±0.32	15.28 ^b ±0.04	21.56 ^b ±.29	30.00 ^a ±0.17	31.32 ^a ±0.25
C18:2 (AL)	16.16±0.08	4.41 ^c ±0.15	7.48 ^b ±0.01	10.68 ^b ±0.15	13.60 ^a ±0.04	20.30 ^a ±0.34
C18:3 (α-LN)	<LOQ	0.09 ^a ±0.02	0.07 ^b ±0.00	0.05 ^b ±0.00	0.03 ^c ±0.00	0.03 ^c ±0.00
C18:3 (γ-LN)	0.92±0.01	1.03 ^a ±0.07	1.04 ^b ±0.02	1.03 ^b ±0.03	1.01 ^b ±0.00	1.64 ^a ±0.01
C20	0.07±0.00	0.57 ^a ±0.06	0.47 ^b ±0.00	0.39 ^c ±0.01	0.25 ^d ±0.00	0.37 ^c ±0.01
C20:1	0.16±0.00	0.73 ^a ±0.05	0.63 ^b ±0.01	0.52 ^c ±0.00	0.38 ^d ±0.01	0.47 ^c ±0.01
C20:2	<LOQ	0.21 ^a ±0.02	0.18 ^b ±0.00	0.13 ^c ±0.01	0.07 ^d ±0.00	0.09 ^d ±0.01
C20:3n-3	<LOD	0.17 ^a ±0.01	0.14 ^b ±0.00	0.11 ^c ±0.00	0.07 ^d ±0.01	0.05 ^e ±0.00
C20:3n-6	0.02±0.00	2.45 ^a ±0.16	2.04 ^b ±0.01	1.52 ^c ±0.01	0.83 ^d ±0.00	0.67 ^e ±0.01
C20:4 (AA)	0.02±0.00	0.12 ^a ±0.02	0.09 ^{ab} ±0.01	0.08 ^b ±0.00	0.05 ^c ±0.00	0.03 ^c ±0.01
C20:5 (EPA)	0.05±0.05	0.39 ^a ±0.03	0.32 ^b ±0.01	0.24 ^c ±0.01	0.14 ^d ±0.00	0.15 ^d ±0.01
C21	0.12±0.01	0.24 ^a ±0.04	0.20 ^b ±0.00	0.14 ^c ±0.00	0.09 ^d ±0.01	0.10 ^{bc} ±0.00
C22	0.04±0.00	0.33 ^a ±0.03	0.28 ^b ±0.00	0.22 ^c ±0.00	0.15 ^d ±0.01	0.18 ^{bc} ±0.01
C22:1	0.02±0.00	2.45 ^a ±0.16	2.04 ^b ±0.01	1.52 ^c ±0.01	0.83 ^d ±0.00	0.67 ^e ±0.01
C22:2	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD
C22:6 (DHA)	<LOD	10.79 ^a ±0.75	9.22 ^b ±0.09	6.98 ^c ±0.13	3.73 ^d ±0.02	3.32 ^e ±0.04
C23	0.07±0.03	11.66 ^a ±0.74	9.94 ^b ±0.05	7.44 ^c ±0.09	4.11 ^d ±0.04	2.12 ^e ±0.01
C24	0.06±0.00	0.18 ^a ±0.02	0.16 ^{ab} ±0.00	0.15 ^b ±0.01	0.12 ^c ±0.00	0.18 ^{ab} ±0.01
C24:1	<LOD	1.91 ^a ±0.12	1.62 ^b ±0.02	1.23 ^c ±0.00	0.69 ^d ±0.00	0.42 ^e ±0.00

JC: Dieta comercial. DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30%: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate (PA), respectivamente. Promedio y desviación estándar de 3 réplicas. Los valores con una letra diferente (a-e) dentro de una fila son significativamente diferentes (p < 0.05).

Tabla 11. Resumen de ácidos grasos de las dietas.

	PA	DB	D10	D20	D30	DC
ΣAGS	26.56±0.32	59.21 ^a ±1.19	51.98 ^b ±0.07	45.47 ^c ±0.42	37.74 ^d ±0.13	36.78 ^e ±0.46
ΣAGM	56.28±0.28	21.13 ^a ±0.43	27.43 ^b ±0.06	33.60 ^c ±0.31	42.73 ^a ±0.09	36.95 ^b ±0.15
ΣAGP	17.15±0.10	17.20 ^c ±1.06	18.54 ^b ±0.09	19.32 ^b ±0.01	18.70 ^b ±0.04	25.60 ^a ±0.32
ΣAGI	73.44±0.39	40.79 ^d ±1.19	48.02 ^c ±0.07	54.12 ^b ±1.10	62.26 ^a ±0.13	63.22 ^a ±0.46
ΣΩ-9	42.11±0.41	14.19 ^d ±0.63	19.58 ^c ±0.03	24.42 ^b ±0.99	31.90 ^a ±0.18	32.90 ^a ±0.21
ΣΩ-6	17.09±0.08	5.94 ^a ±0.28	8.94 ^d ±0.03	12.04 ^c ±0.18	14.80 ^b ±0.04	22.11 ^b ±0.35
ΣΩ-3	0.05±0.05	11.26 ^a ±0.79	9.60 ^b ±0.09	7.34 ^c ±0.23	3.90 ^d ±0.01	3.49 ^d ±0.04
AGI/AGS	2.76±0.04	0.69 ^a ±0.03	0.92 ^c ±0.00	1.19 ^c ±0.03	1.65 ^b ±0.01	1.72 ^a ±0.03
Ω-6/ Ω-3	301.79±0.46	0.53 ^a ±0.01	0.93 ^d ±0.01	1.66 ^c ±0.05	3.79 ^b ±0.02	6.33 ^a ±0.17

DC: Dieta comercial, DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30%: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate (PA), respectivamente. Promedio y desviación estándar de 3 réplicas. Los valores con una letra diferente (a-e) dentro de una fila son significativamente diferentes (p <0.05).

también por Moreno (2013) y Karapanagiotidis *et al.* (2007), quienes al sustituir el aceite de pescado por fuentes ricas en AGI en dietas acuícolas, observaron una influencia importante en la modificación del perfil de lipídico, produciendo cambios en AGI/AGS con incrementos significativos en el perfil de compuestos insaturados. Como parte de los ácidos grasos insaturados, AL se presentó en mayor proporción en D30, con un valor de 13.60%, lo cual fue tres veces mayor a lo reportado en la DB; α -LN no presentó diferencia significativa con respecto a DC. Es importante la presencia de estos compuestos en la dieta, ya que al utilizar las mismas rutas metabólicas y competir por las mismas enzimas elongasas y desaturasas, el AL se metaboliza ácido aspártico y el ácido linolénico (ALN) da lugar al EPA y al DHA. Con respecto a esto, DHA y EPA juegan un papel importante tanto en la estructura como en la función de las membranas celulares, además presentan propiedades antiinflamatorias (Perez *et al.*, 2007; Carrero *et al.*, 2005; Connor, 2000; Sargent *et al.*, 1997; Castell *et al.*, 1994). Para un adecuado crecimiento, las tilapias requieren mayores cantidades de ácidos grasos n-6 comparados con n-3, respaldado por el hecho de que altos niveles de AGPI n-3 detienen dicho crecimiento (Teoh *et al.*, 2011; El-Husseiny *et al.*, 2010; Hūang *et al.*, 1998). Lo anterior hace que la relación (n-6/n-3) de la dieta sea muy importante, enfatizando que D30 obtuvo los valores más altos entre las dietas formuladas.

5.9. Determinación del perfil de aminoácidos de las dietas

En la Tabla 12 se presenta la determinación de 15 aminoácidos, de los cuales 9 son esenciales para la especie de estudio (lisina, arginina, histidina, treonina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina). Las concentraciones fueron en general similares a lo reportado por Hernández-López (2016) en una PA elaborada a partir de la molienda del fruto completo (pulpa, cáscara y semilla). No obstante, el ácido glutámico, alanina, serina y ácido aspártico resultaron ser más bajos debido a que son los principales aminoácidos encontrados en la semilla de aguacate, la cual se excluyó de la elaboración por razones nutrimentales (Bressani, 2006). Por lo tanto, en base a la tabla se puede observar que la inclusión de PA promueve la concentración de aminoácidos esenciales en las distintas dietas formuladas (D10, D20 y D30), como son treonina, tirosina, arginina, histidina, metionina y lisina.

Tabla 12. Perfil de aminoácidos en la pasta de aguacate y dietas experimentales.

Aminoácido	g/100g					
	PA	DB	D10	D20	D30	DC
Ac. Aspártico	7.88 ± 0.14	5.52 ± 0.01 ^c	6.90 ± 0.08 ^b	6.91 ± 0.05 ^b	6.50 ± 0.21 ^b	6.68 ± 0.04 ^{bc}
Ac. Glutámico	9.51 ± 0.13	11.61 ± 0.06 ^a	15.54 ± 0.28 ^c	16.19 ± 0.43 ^b	14.78 ± 0.09 ^c	12.28 ± 0.14 ^d
Serina	0.85 ± 0.01	1.48 ± 0.03 ^b	1.18 ± 0.02 ^c	1.25 ± 0.01 ^b	1.25 ± 0.01 ^b	1.48 ± 0.00 ^a
Histidina	4.42 ± 0.02	4.44 ± 0.08 ^c	4.80 ± 0.11 ^b	5.33 ± 0.10 ^a	4.88 ± 0.14 ^b	4.68 ± 0.09 ^{bc}
Glicina	5.37 ± 0.05	4.85 ± 0.44 ^a	1.65 ± 0.14 ^d	1.57 ± 0.03 ^d	2.86 ± 0.13 ^c	4.03 ± 0.09 ^b
Treonina	4.03 ± 0.04	4.66 ± 0.03 ^{bc}	4.87 ± 0.07 ^a	4.78 ± 0.17 ^{cd}	4.59 ± 0.06 ^b	4.61 ± 0.00 ^b
Arginina	5.41 ± 0.11	10.18 ± 0.35 ^b	9.26 ± 0.02 ^c	10.13 ± 0.03 ^b	10.42 ± 0.27 ^{bc}	10.87 ± 0.02 ^a
Alanina	1.90 ± 0.01	2.11 ± 0.02 ^a	1.87 ± 0.00 ^a	1.91 ± 0.03 ^{cd}	1.95 ± 0.02 ^{bc}	2.01 ± 0.02 ^b
Tirosina	15.28 ± 0.40	12.14 ± 0.34 ^{bc}	13.23 ± 0.08 ^a	11.87 ± 0.25 ^b	11.87 ± 0.30 ^b	11.44 ± 0.24 ^b
Metionina	2.55 ± 0.02	1.78 ± 0.02 ^c	2.33 ± 0.06 ^a	2.41 ± 0.04 ^a	2.15 ± 0.00 ^c	1.80 ± 0.02 ^c
Valina	8.94 ± 0.03	7.81 ± 0.13 ^a	7.25 ± 0.07 ^b	7.00 ± 0.08 ^c	7.30 ± 0.00 ^c	7.64 ± 0.03 ^a
Fenilalanina	6.94 ± 0.10	7.45 ± 0.03 ^a	6.36 ± 0.14 ^b	6.31 ± 0.69 ^b	6.59 ± 0.05 ^b	6.86 ± 0.01 ^{bc}
Isoleucina	7.99 ± 0.04	8.46 ± 0.08 ^a	7.66 ± 0.15 ^c	7.69 ± 0.17 ^c	7.89 ± 0.02 ^{bc}	8.02 ± 0.08 ^b
Leucina	12.37 ± 0.08	11.40 ± 0.31 ^a	10.61 ± 0.31 ^b	10.64 ± 0.05 ^b	10.70 ± 0.00 ^b	11.49 ± 0.05 ^a
Lisina	6.75 ± 0.18	6.32 ± 0.15 ^{bc}	6.49 ± 0.27 ^a	6.02 ± 0.10 ^b	6.25 ± 0.01 ^{bc}	6.10 ± 0.05 ^{bc}

DC: Dieta comercial, DB: Dieta base (0%), D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate (PA), respectivamente. Promedio y desviación estándar de 3 réplicas. Los valores con una letra diferente (a-e) en una fila son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En la presente investigación no se determinó el triptófano, por lo que se decidió realizar un análisis de pH a las dietas experimentales, esto con la finalidad de confirmar si este factor no afectaría su estabilidad. Generalmente el triptófano es degradado a valores de pH ácidos en presencia de oxígeno y lípidos oxidados, al igual que en pH alcalinos con influencia de altas temperaturas. De acuerdo a Campolo (2003), el triptófano es degradado a 100 °C en medios con un intervalo de pH de 2-7, obteniendo una mayor oxidación a 5.9. En algunos estudios se ha reportado que en procesos como el ensilado se pueden perder cantidades considerables de este compuesto, debido al grado de acidez que se maneja en el producto final fermentado. Sin embargo, dicha acidez se maneja normalmente entre valores de pH de 3.8-5.0, los cuales son inferiores a los obtenidos en nuestras dietas experimentales (Garcés-Molina *et al.*, 2004). Por otro lado, es importante mencionar que durante el proceso de elaboración de las dietas no se requirió el manejo de altas temperaturas, como es el caso de los alimentos extruidos, los cuales alcanzan temperaturas mayores a 120-160 °C, pudiendo tener un efecto sobre la disminución de este aminoácido esencial (Tenorio-Fernández, 2009).

5.10. Puntaje químico (PQ)

Los principales insumos proteicos utilizados para la elaboración de las dietas formuladas fueron la harina de pescado, grenetina, harina de trigo y harina de soya. Sin embargo, dichos insumos presentan limitaciones en el aporte de ciertos aminoácidos, provocando que disminuya la calidad proteica del producto final. En el caso de la harina de trigo, esta presenta como principal aminoácido limitante la treonina y segundo lugar la histidina y arginina (Furuya *et al.*, 2006; Llanes *et al.*, 2006). Por otro lado, insumos de origen vegetal como las legumbres y cereales presentan como principales aminoácidos limitantes la metionina y lisina, respectivamente. La suplementación de lisina, treonina y metionina en una dieta acuícola promueve la ganancia de peso, mejora la conversión alimenticia, retención de nitrógeno y reducción de lípidos en canal (Bai y Gatlin, 1994; Davis *et al.*, 1997; Berge *et al.*, 1998). Por tal motivo, es indispensable evaluar la calidad proteica en la dietas elaboradas. En la Tabla 13 se muestran 9 de los aminoácidos esenciales requeridos por la especie de estudio (tilapia *O. niloticus*) y el puntaje químico (PQ) de las dietas experimentales. Como resultado, se observa la metionina como el único aminoácido

limitante en todas las dietas, ya que su valor de PQ fue menor a 1. Esto debido a que el aporte de metionina por parte de la PA no fue suficiente para cubrir el aporte del mismo por la pasta de soya, el cual es el insumo mayoritario con forme la inclusión de PA aumenta en la formulación. Cabe mencionar que en las dietas con inclusión de pasta de aguacate se obtuvieron valores de 0.8 y 0.9, lo cual es aceptable debido a que se acercan teóricamente al requerimiento de metionina en dietas destinadas a tilapia. En comparación, las dietas con valores más bajos fueron DB y DC, con valores de 0.66 y 0.67, respectivamente. Es importante mencionar que en general, las dietas suplementadas con PA compiten y en algunos casos sobrepasan la concentración de la mayoría de aminoácidos esenciales al compararlas con DB y DC, o bien, con los requerimientos reportados en otros estudios. Por lo tanto, la inclusión de PA no afecta los requerimientos de aminoácidos esenciales para tilapia nilótica, a pesar que la harina de pescado disminuye con forme aumenta la inclusión del subproducto. Lo anterior es relevante debido al significativo incremento del costo de la harina de pescado en los últimos 20 años y la búsqueda de nuevas alternativas que fomente el desarrollo de la acuicultura como sector que promueve la economía y una buena alimentación (FAO, 2016).

Finalmente, de acuerdo a los análisis realizados en el presente estudio, las dietas con inclusión de pasta de aguacate cumplen con los niveles de proteína y lípidos, al igual que el perfil de ácidos grasos y aminoácidos necesarios para su aplicación en un cultivo para tilapia de Nilo. Como se ha mencionado anteriormente, es crucial que el alimento presente una concentración de compuestos bioactivos capaces de promover la actividad antioxidante, tanto en el alimento para una adecuada conservación y evitar el deterioro de los componentes por procesos oxidativos, así como en la especie que lo consume para mitigar los efectos del estrés oxidativo ocasionados por las condiciones de explotación. En este contexto, D30 presentó la más alta actividad antioxidante entre las dietas con inclusión de aguacate, por lo que representa una mayor ventaja ante la oxidación por especies reactivas. Asimismo, en su formulación presenta el mayor porcentaje de inclusión de pasta de aguacate, lo cual permite una disminución significativa del uso de aceite de pescado. Por otro lado, un mayor aprovechamiento de subproductos del fruto de aguacate representaría una disminución en la contaminación por el desecho de estos, además de contribuir a una posible disminución los costos de producción por alimentación.

Tabla 13. Puntaje químico de los aminoácidos esenciales en las dietas.

Aminoácido	*Requerimiento para Tilapia	DB		D10		D20		D30		DC	
	mg/g	mg/g	PQ								
Arginina	42	101.85	2.42	92.62	2.21	101.29	2.41	104.20	2.48	108.67	2.59
Histidina	17.2	44.36	2.58	48.01	2.79	53.35	3.10	48.83	2.84	48.82	2.72
Isoleucina	31.1	84.62	2.72	76.56	2.46	76.90	2.47	78.88	2.54	80.17	2.58
Leucina	34	114.03	3.35	106.05	3.12	106.41	3.13	107.05	3.15	114.94	3.38
Lisina	51.2	63.16	1.23	64.89	1.27	60.20	1.18	62.46	1.22	61.00	1.19
Metionina	26.8	17.77	0.66	23.31	0.87	24.06	0.90	21.52	0.80	18.03	0.67
Fenilalanina	37.5	74.48	1.99	63.64	1.70	63.12	1.68	65.88	1.76	68.56	1.83
Treonina	36	46.60	1.29	48.72	1.35	47.81	1.33	45.91	1.28	46.06	1.28
Valina	28	78.13	2.79	72.47	2.59	69.98	2.50	73.02	2.61	76.38	2.73

DC: Dieta comercial, DB: Dieta base (0%). D10, D20 y D30: Dietas formuladas con 10, 20 y 30% de inclusión de pasta de aguacate (PA), respectivamente. Promedio de 3 réplicas.

*Santiago y Lovell (1988).

VI. CONCLUSIONES

1. La pasta de aguacate es un interesante y novedoso subproducto que puede ser considerada como fuente alternativa de nutrientes, capaz de ser utilizada como insumo mayoritario en dietas destinadas para tilapia del Nilo u otras especies susceptibles a ser aprovechadas en el sector acuícola, sin modificarse la consistencia, forma y características de la presentación del alimento en forma de pelet.
2. El subproducto de aguacate es una excelente fuente natural de compuestos bioactivos, los cuales aumentan la capacidad antioxidante y la concentración de dichos compuestos en las dietas de manera proporcional al porcentaje de su inclusión.
3. La pasta de subproducto de aguacate demostró ser una buena fuente de lípidos capaz de contribuir de manera significativa al aporte total de estos en las dietas elaboradas y promover un aumento en la concentración de ácidos grasos insaturados. Además, contribuyó al aumento de algunos de los aminoácidos esenciales en las dietas formuladas o bien, a alcanzar los requerimientos establecidos de ciertos aminoácidos limitantes para la especie en cuestión.
4. Por lo anterior, el subproducto de aguacate en forma de pasta demostró ser un potencial insumo para ser utilizado no solo en dietas para tilapia, si no para ser probada en alimento para otras especies de peces u otros organismos acuáticos destinados a la producción acuícola como son los crustáceos. Aún con los resultados favorables encontrados en el presente estudio, una posible aplicación en un sistema de acuicultura se debe tomar con reserva y llevar a cabo estudios más específicos relacionados con la aceptabilidad por parte de la especie en cuestión, estabilidad de la dieta, digestibilidad, parámetros biológicos y de producción, entre otros.

VII. REFERENCIAS

- Ahumada J., Bardales M. (2011). Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca. Universidad nacional mayor de san marcos. San Martin. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- Akiyama D., Chwang N. (1993). Requerimientos nutricionales del camarón y manejo del alimento. En: Cruz-Suárez L.E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza Editores. Mem. Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos Acuícolas. Asociación Americana de Soya y Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México. pp 479-491.
- Aldana H. (2001). Producción agropecuaria. 2da Ed. Bogotá, Colombia. Terranova Editores Ltda.
- Álvarez J.S., García T., Villarreal H., Galindo J., Fraga I., Pelegrin E. (2004). Alternativas para obtener alimentos más eficientes en el engorde semiintensivo del camarón blanco *Litopenaeus schmitti*. En: Avances en nutrición acuícola vii. memorias del vii simposio internacional de nutrición acuícola. Hermosillo, Sonora, México. pp 721-746.
- Álvarez T., Soto F., Avilés L., Díaz C., Treviño C. (2012). Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción Acuicola en México. Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. Instituto Nacional de la Pesca. 30p.
- Alvizouri M., Carranza J., Herrera J.E., Chávez F., Amescua J.L. (1992). Effects of avocado as a source of monounsaturated fatty acids on plasma lipid levels. *Archives of Medical Research*, 23: 163-167
- Andrews J.W., Murai T., Page J.W. (1980). Effects of dietary cholecalciferol and ergocalciferol on catfish. *Aquaculture*, 19: 49-54.
- Amin A.D., Dinova D.K., Ferreira M. E., Vishnoi N., Hancock L.C., Osley M. A., Prochasson P. (2012). The mitotic Clb cyclins are required to alleviate HIR-mediated repression of the yeast histone genes at the G1/S transition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 19(1): 16-27.

- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir M., Novel S. (2004). Total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52: 7970–7981.
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Çelic S. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160: 413–419.
- Arredondo F., Campos R., Flores F., González F., Garduño H. (1994). Desarrollo Científico y Tecnológico del Banco de genoma de Tilapia. SEPESCAUAMI. 126p.
- Arredondo-Figueroa J.L., Lozano-García S. (1996). El cultivo de la tilapia en México. Primer curso internacional de producción de tilapia. pp 7-18.
- Ashton B.O., Wong M., Ghi E.T.K., Vather R., Wang Y., Requejo-Jackman R., Ramankutty P., Woolf A.B. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 54: 10151-10158.
- Avello M., Suwalsky M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepto)*, 494: 161-172.
- Axelsson M., Gentili F. (2014). Un método de un solo paso para rápida extracción de lípidos total de green microalgas. *PLOS ONE*, 9(2): e89643.
- Barreto P.W. (2014). Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (*Persea americana* Mill. var *Hass*) sometidos a extrucciones clásicas y a fluidos presurizados. Tesis para obtener el título de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias, Departamento de Química. Línea de investigación: Química Agroalimentaria y Ambiental, Estudio de los cambios químicos y bioquímicos de alimentos frescos y procesados. Bogotá, Colombia. pp 89.
- Bautista R.O., Ortega C.R. (2002). El aguacate mexicano frente a la apertura del mercado norteamericano. *Revista Claridades Agropecuarias*, 3-20.
- Bell G., Sargent R. (2003). Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, 218: 491-499.
- Benzie I., Strain J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.

- Bergh B.O. (1992). The origin, nature, and genetic improvement of the avocado. Calif. Avocado Sociation. *Yearbook*. 76: 61-75.
- Bhujel R.C. (2002). Nutrition and low-cost feeding management for tilapia. *Panorama Acucultura*, 7: 9.
- Bora P., Narain N., Rocha R., Paulo M. (2001). Characterization of the oils from the pulp and seeds of avocado (cultivar: Fuerte) fruits. *Grasas y Aceite*, 52(3-4): 171-174.
- Boscolo W., Signor A., Feiden A., Bombardelli R., Signor A., Reidle A. (2005). Energia digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34 (6): 1813-1818.
- Bowen S., Feeding H. (1982). Digestion and Growth-Qualitative Considerations. In : The Biology and culture of Tilapias. R. Pullin and R. Lowe-McConnell (eds.). Manila: ICLARM Conference Proceedings 7. pp 141-156.
- Brafield A., Llewellyn M. (1982). Animal energetics. Glasgow. Blackie.UK. pp 168.
- Bressani R. (2009). La composición química, capacidade antioxidante y valor nutritivo de la semilla de variedades de aguacate. Proyecto FORDECYT No. 02-2006. Guatemala.
- Bomfim M.A.D., Lanna E.A.T., Donzele J.L., Quadros M., Ribeiro F.B., Araújo W.A.G. (2008) Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal, de alevinos de tilápiado-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(12): 2077-2084.
- Bondi Aron A. (1987). Nutrición Animal. Editorial Acribia, Zaragoza España, pp 546.
- Buddington R.K., Krogdahl Å. (2004). Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139: 261-271.
- Bureau D., Cho C. (1996). An introduction to nutrition and feeding of fish. Fish nutrition research laboratory. Dept. of animal and poultry science. University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, pp 33.
- Campolo H.N. (2013). Nitración y oxidación de tirosina por peroxi nítrito, mediada por metales de transición. Centro de Investigaciones Biomedicas. Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay. pp 104.
- Cantor F. (2007). Manual de Producción de Tilapia. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. pp 1-135.

- Caprioli G., Giusti F., Ballini R., Sagratini G., Donatuna P., Vittori S., Fiorini D. (2016). Valor nutricional de los lípidos de las leguminosas: Evaluación de diferentes métodos de extracción y determinación de la composición de ácidos grasos. *Food Chemistry*, 192: 965-971.
- Carrero J.J., Martín-Bautista E., Baró L., Fonollá J., Jiménez J., Boza J.J., López-Huertas E. (2005). Alimentos funcionales: Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutrición Hospitalaria XX*, 1: 63-69.
- Castelló O.F. (2000). Alimentos y estrategias de alimentación para reproductores y juveniles de peces marinos. Laboratorio de Acuicultura. Dept. Biología Animal, Fac. Biología.- Universidad de Barcelona, España. pp 550-569.
- Castro R., Hernández J., Aguilar G. (2004). Evaluación de tres especies o líneas de tilapia. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR)-IPN. *Aquatic*, 20: 38-43.
- Cerdas-Arroyo M., Montero-Calderón M., Díaz-Cordero E. (2006). Manual de manejo pre y poscosecha de aguacate (*Persea Americana*). Consejo editorial: Mojica F., Gutierrez-Mejía G., Ramirez-Carlin L., Calderón-Villalobos A., Zufiga vander del Laar D. y Guzmán-Díaz. Centro de Investigaciones Agronómicas Universidad de Costa Rica. San José. 95p.
- Civera R., Galicia A., Nolasco H., Goytortúa E., Cruz L.E., Ricque D., Moyano F., Tovar D., Palacios E., Álvarez A. (2010). Uso del cártamo (*Carthamus tinctorius*) como ingrediente en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei*. En: Cruz-Suarez L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado. (Eds), Avances en nutrición acuícola X. Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuicola. pp. 393-466. ISBN 978-607-433-546-0.
- Chávez F., Aranda M., García A., Pastene E. (2011). Los polifenoles antioxidantes extraídos del epicarpio de Palta (*Persea americana* var. Hass) inhiben la ureasa de *Helicobacter pylori*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Aromáticas*, 10(3): 265- 80.
- Chávez C.R., Quieroga de Paula R., Gücker B., Marriel I.E., Teixeira A.O., Boëchart I.G. (2015). Na alternative fish feed based on earthworm and fruit meals for tilapia and carp

- posttarvae*. *Revista Brasileira de Biociencias*, 13: 15-24.
- Choat J., Clements K., Robbins W. (2002). The tropic status of herbivorous fishes on coral reefs. I. Dietary analysis. *Marine Biology*, 140: 613-623
- Church D.C. (2002). *Fundamentos de Nutrición y alimentación de Animales*. Limusa, México D.F. 635p.
- CONAPESCA. (2016). Ubicación de centros acuícolas. Disponible en: Disponible en www.gob.mx. Consultado el 11 de enero del 2017.
- Connor W.E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical nutrition*, 71: 171S-175S.
- Connor K.M., SanGiovanni J.P., Lofqvist C., Aderman C.M., Chen J., Higuchi A., Hong S., Pravda E.A., Majchrzak S., Carper D., Hellstrom A., Kang J.X., Chew E.Y., Salem N., Serhan C.N., Smith L.E. (2007). Increased dietary intake of omega-3-polysaturated fatty acids reduces pathological retinal angiogenesis. *Nature Medicine*, 13: 868-873.
- Coscuela E.R., Amorim M.M., Voss G.B., Manuela B., Pintado E. (2016). Bioactive properties of peptides obtained from Argentina defatted soy flour protein by corolase PP hydrolysis. *Food Chemistry*, 198: 36-44.
- Cowey C.B., Sargent J.R. (1972). Fish nutrition. *Advances in Marine Biology*, 10:383-492.
- Daiuto E., Tremocoldi M., de Alencar S., Lopes-Vieites R., Herbest P. (2014). Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'hass'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2): 417-424.
- Degani G., Viola S. (1987). The protein sparing effect of carbohydrates in the diet of eels *Anguilla anguilla*. *Aquaculture*, 64, 283-291.
- Devi A. M.K., Gondi M., Sakthivelu G., Giridhar P., Rajasekaran T., Ravishankar G. A. (2009). Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114: 771-776.
- Dimova N. (2003). RP-HPLC analysis of amino acids with UV-Detection. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 56: 12-75.
- El-Husseiny O., Abdul-Aziz G., Goda A., Suloma A. (2010). Effect of altering linoleic acid and linolenic acid dietary levels and ratios on the performance and tissue fatty acid

- profiles of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fry. *Aquaculture International*, 18:1105-1119.
- Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A. (2006). Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, 143(1): 89-96.
- Enes P., Panserat S., Kaushik S., Oliva-Teles A. (2011). Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) Juveniles. *Reviews in Fisheries Science*, 19(3): 201-215.
- Escobar-Briones L., Olvera-Novoa M.A., Puerto-Castillo C. (2006). Avances sobre la ecología microbiana del tracto digestivo de la tilapia y sus potenciales implicaciones. Avances en nutrición acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. ISBN: 970-694-333.
- FAO. (2000). Información pesquera. Dependencia de Información, Datos y Estadísticas de Pesca. Producción de acuicultura 1998. FAO anuario. Estadísticas de pesca. Capturas, 86:169. -
- FAO. (2005). Segmentación de los productos y perspectivas de mercado en los mercados del aguacate de la Comunidad Europea y los Estados Unidos, pp 2-3.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, 224p.
- FAO. (2017). FAOSTAT Statistics Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en: www.fao.org/faostat/en/#data. Consultado el 02 de Marzo del 2017.
- Fraga-castro I., Jaime-ceballos B. (2011). Efecto de ensilados de pescado hígado de tiburón en el crecimiento de *Litopenaeus schmitti*, en sustitución de la harina y el aceite de pescado. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(11): 1-15.
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biology Chemistry*, 226(1): 497-509.

- Furuya V.R.B., Furuya W.N., Hayashi C., Soares C. (2000). Niveles de Inclusión de Harina de Girasol en la Alimentación de la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), en Etapa Juvenil. *Zootecnia Tropical*, 18(1): 91-106.
- Furuya W.N., Santos V.G., Rosa L.C. (2006). Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35: 937-942.
- Garcés-Molina A.M., Barrio L., Ruiz-Alzate S., Lerna-DLeón J.G., Builes-Arango A.F. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1): 66-71.
- García-Gallego M., Sanz-Rus A. (1987). Absorción Intestinal en peces. Nutrición y acuicultura I. CAYCYT. 303:1223-196.
- García-Ortega A., D. Muiy-Rangel A., Puello-Cruz Y., Villa-López M., Escalante-Rojas K., Preciado-Iñiguez K. (2010). Uso de ingredientes de origen vegetal como fuentes de proteína y lípidos en alimentos balanceados para peces marinos carnívoros. En: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie D., M. Tapia-Salazar, M.G. Nieto-López, D.A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado (Eds.). Avances en nutrición acuícola X – Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuicola. pp 321-340. ISBN 978-607-433-546-0.
- Gómez C. (1991). Cowpea: Post-harvest Operations. In: Compendium on Post-harvest Operations (D. Mejía y E. Parrucci, editores). FAO, Rome.
- Goulao L., Oliveira C. (2008). Cell wall modifications during fruit ripening. When a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science & Technology*, 19(1): 4-25.
- Grageola F. (2009). Aprovechamiento del aguacate de desecho en la alimentación del cerdo Pelón Mexicano y cerdo comercial. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic. México. pp 35-39.
- Gorinstein S., Poovarodom S., Leontowicz H., Leontowicz M., Namiesnik J., Vearasilp S., Haruenkit R., Ruamsuke P., Katrich E., Tashma Z. (2011). Antioxidant properties and bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits *in vitro* and *in vivo* studies. *Food Research International*, 44: 2222- 2232.
- Guillaume J. (2004). Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Mundi-Prensa.

- Guillaume J., Guillou F. (1999). Nutrition vitaminique. In: Métailler. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot (Eds.). 489p.
- Guevara W.N. (2003). Formulación y elaboración de dietas para peces y crustaceos. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna-Perú.
- Guler G., Kiztanir B., Aktumsek A., Cıtil O., Ozparlak (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and x3/x6 ratios of carp (*Cyprinus carpio L.*) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Journal Food Chemistry*, 108:689-694.
- Halver J.E. (1980). Fish Feed Technology. RomaFAO/ UNDP: Aquaculture Development and Coordination Programme.
- Halver J.E. (1985). Recent advances in vitamin nutrition and metabolism in fish C.B. Cowey, A.M. Mackie, J.G. Bell (Eds.). Nutrition and Feeding in Fish, Academic Press, London, pp 415-429.
- Halver J. (1989). Fish Nutrition. 2. Ed. San Diego, California: Academic Press. 798p.
- Hamre K, Lie O. 1997. Retained levels of dietary α -, γ - and δ -tocopherol in tissues and body fluids of Atlantic salmon, *Salmo salar*, L. *Aquaculture Nutrition*, 3(2): 99-107
- Hemre G.I, Mommsen T.P., Krogdahl A. (2002). Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition*, 8(3): 175-194.
- Henderson R.J., Sargent J.R. (1985). Chain-length specificities of mitochondrial and peroxisomal β -oxidation of fatty acids in livers of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 82: 79-85.
- Hernández-López S., Rodríguez-Carpena J., Lemus-Flores C. (2016). Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative stability during chilled storage. *Meat science*, 116: 186-192.
- Hernández-López S. (2016). Valor nutritivo de pasta de aguacate y su efecto en la estabilidad oxidativa y calidad sensorial de carne de cerdo. Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias biológico agropecuarias en el área de ciencias zootécnicas y veterinarias, Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Xalisco.
- Hilton J., Slinger S. (1983). Effect of Wheat Bran Replacement of Wheat Middlings in extrusion Processed (FLOATING) Diets on the Growth of Juveniles Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) *Aquaculture*, 35: 201-210.

- Hinneburg I., Dorman D., Hiltunen R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Journal Food Chemistry*, 97(1):122-129.
- Huang C, Huang M, Hou P. (1998). Effect of dietary lipids on fatty acid composition and lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 120:331-336.
- Isea R. (2008). Efecto de diferentes formulaciones alimenticias a base de materias primas no convencionales de origen animal y vegetal usadas en la alimentación de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Tesis Doctoral. Facultad de ingeniería. Universidad de los Andes, República Bolivariana de Venezuela.
- Kader A., Arpaia M. (2002). Aguacate: recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. Disponible en: www.ucdavis.edu/Produce/Producefacts/Espanol/Aguacate.html. Consultado el 6 de febrero del 2017.
- Karapanagiotidis I., Bell M., Little D., Yakupitiyage A. (2007). Replacement of dietary fish oils by alpha linolenic acid rich oils lowers omega 3 content in tilapia flesh. *Lipids*, 42: 547-559.
- Karatepe M. (2004). Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by hplc-uv. *Magazine LCGC North America*, 22(4): 362-365.
- Kassahun A., Waidbacher H., Zollitsch W. (2012). Proximate composition of selected potential feedstuffs for small-scale aquaculture in Ethiopia. *Livestock Research for Rural Development*, 24(6): 1-118.
- Katsuyama M., Matsuno T. (1988). Carotenoid and vitamin A, and metabolism of carotenoids, β -carotene, canthaxanthin, astaxanthin, zeaxanthin lutein and tunaxanthin in tilapia nilotica. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90B: 131-139.
- Kim D., Lee K., Lee H., Lee C. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717.

- Kurnia A., Sato S., Haga Y., Nakada M., Matsumura H., Watanabe Y., Adachi S. (2015). Muscle coloration of rainbow trout with astaxanthin sources from marine bacteria and a synthetic astaxanthin. *Journal Aquaculture Research Development*, 6: 5.
- Kuskoski E., Asuero A., Troncoso A., Garcia-Parilla M., Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4): 691-693.
- Lam F., Barroso V., Domínguez J., (2015). Evaluación de tres tipos de alimento en el crecimiento preliminar de la "cachama blanca" (*Piaractus brachipomus*) en Pastaza, Ecuador. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 4(3): 217-234.
- Larson R.A. (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 4: 969-978.
- Lee C.-M., Boileau A.-C., Boileau T.-W., Williams A.-W. (1999). Review of animal models in carotenoid research. *Journal of Nutrition*, 129: 2271-2277.
- Lewis M., Seburg S., Flanagan N. (2000). Enriched eggs as a source of n3 polyunsaturated fatty acid for humans. *Poultry Science*, 70: 971-974.
- Lie O. (2001). Flesh quality: the role of nutrition. *Aquaculture Research*, 32, 341-348.
- Li J., Ye X., Lu M.X., Deng G.C., Tian Y.Y., Jiang X.Y., Li J.P. (2010). Rapid identification of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* with duplex PCR assay. *Nature Science*, 36: 449-452.
- Llanes J., Toledo J., Fernández I., Lazo de la Vega J. (2006). Nutrición y alimentación de tilapias. O.B. Centro de Preparación Acuicola Mampostón. *Artículos técnicos. Asociación Cubana de Producción Animal*, 4: 51-54.
- Losekann M.E., Neto J.R., Emanuelli T., Pedron F., Lazzaril G., Bergamin T., Corrêa V., Scherer Simões, R. (2008). Alimentação do jundiá com dietas contendo óleos de arroz, canola ou soja Alimentação do jundiá com dietas contendo. *Ciência Rural, Santa Maria*, 38: 225-230.
- Lovell T. (1998). Feeding tilapia. Nutrition and feeding of fish. Kluwer academic publisher USA, pp 215-225.
- Lv J., Yu L., Lu Y., Niu Y., Liu L., Costa J., Liangli Yu L. (2012). Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry*, 135: 325-331.

- Lu Q., Zhang Y., Wang Y., Wang D., Lee R., Gao K., Byrns R., Heber D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of carotenoids, tocopherol, fatty acid, and fat content during maturation and from different growing areas. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, 57: 10408-10413.
- Lundebye K., Hove H., Mage A., Bohne V., Hamre K. (2010). Levels of synthetic antioxidants (ethoxyquin, butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole) in fish feed and commercially farmed fish. *Food Additives & Contaminants*, 27: 1652-1657.
- Lunn J. y Theobald H. (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutrition Bulletin*, 31: 178-224.
- Martino C., Cyrino J., Portz L. (2002). Effect of dietary lipid level on nutritional performance of surubim (*Pseudoplatistomacorruscans*). *Aquaculture*, 209: 209-218.
- Morales A. (1974). El cultivo de la tilapia en México. Datos Biológicos. Instituto Nacional de la Pesca, México. pp 124-125.
- Morales D. (1991) Tilapia en México, biología, morfología y cultivo. AGT (eds). 194p.
- Moreno E., Ortiz B., Restrepo L. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 43(3): 41-48.
- Morales F., Jimenez-Perez S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products products as related to colour and fluorescence. *Journal Food Chemistry*, 72: 119-125.
- Mourente G., Good J.E., Bell, J.G. (2005). Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2 and F2a, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquaculture Nutrition*, 11: 25-40.
- Mundheim H., Aksnes A., Hope, B. (2004). Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. *Aquaculture*, 237: 315-331.
- Navarro R.D., Ferreira W.M., Ribeiro Filho O.P., Botton L.M., Pereira K.S., Silva F.E., Maciel E.F. (2010). Desempenho de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementada com vitamina C. *Archivos de Zootecnia*, 59: 589-596

- Ng W.-K., Tee M.-C., Boey P.-L. (2000). Evaluation of crude palm oil and refined palm olein as dietary lipids in pelleted feeds for a tropical bagrid catfish *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes). *Aquaculture Research*, 31: 337-347.
- Ng W.-K., Yuen K.-H., Wang Y. (2006). Deposition of tocotrienols and tocopherols in the tissues of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., fed a tocotrienol-rich fraction extracted from crude palm oil and its effect on lipid peroxidation. *Aquaculture*, 253: 583-591.
- N.R.C. (National Research Council) (1993). Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ochoa D.M., González J.F. (2008). Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. *Revista Médica Veterinaria y Zootecnia*, 55:115-126.
- OECD. (2012). Perspectivas OCDE: México reformas del cambio. Disponible en: www.oecd.com. Consultado el 10 de enero del 2017.
- Olsen E., Henderson J., McAndrew J., (1990). The conversion of linoleic acid and linolenic acid to longer chain polyunsaturated fatty acids by tilapia (*Oreochromis*) *nilotica* in vivo. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8: 261-270.
- Ortega-Tovar M. (2003). Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate). pp. 741-748.
- Pazos M., González M. (2005). Preservation of the endogenous antioxidant system of fish muscle by grape polyphenols during frozen storage. *Europe Food Research Technology*, 220: 514-519.
- Pallares P., Borbor W., Saltos N., Naranjo S., Uday V. (2012). Alimentación de tilapia roja con ácido omega 3 y la combinación omega 3-6, en la fase de engorde. Repositorio digital. pp 1-9.
- Perez P., Bressan M., Logato R., Gonçalves S. (2007) Nutrição lipídica para peixes. *Revista Eletrônica Nutntime*, 4(2): 436-455.
- Pinho G., Da Rosa A., Maciel F., Bianchin A., Yunes J., Proença L. (2005). Antioxidant responses after microcystin exposure in gills of an estuarine crab species pre-treated with vitamin E. *Ecology and Environmental Safety*, 61: 361-365.

- Poot C., Novelo-Salazar R. (2009). Cultivo integral de la Tilapia. En: www.scribd.com/doc/20458321/ABC-en-El-Cultivo-Integral-de-La-Tilapia. Consultado el 1 de abril del 2010
- Poovarodom S., Haruenkit R., Vearasilp S., Namiesnik J., Cvikrova M., Martincova O. (2010). Comparative characterization of durian, mango and avocado. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 921-929.
- Poston H.A. (1971). Effect of excess vitamin K on the growth, coagulation time, and hematocrit values of brook trout fingerlings. *Fish. Res. Bull. N.Y. State Conserv. Dep.*, 34: 41-42.
- Puangsri, T., Abdulkarim, S.M., Ghazali, H.M., (2004). Properties of *Carica papaya* L. (papaya) seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods. *Journal of Food Lipids*, 12: 62-76.
- Quiles J., Huertas J., Ochoa J., Battino M., Mataix J., Mañas M. (2003). Dietary fat (virgin olive oil or sunflower oil) and physical training interactions on blood lipids in the rat: basic nutritional investigation. *Nutrition*, 19(4): 363-368.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Journal Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10): 1231-7.
- Reyes R. (2012). Plan de negocios para la producción y comercialización de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* X sp) en Managua, Nicaragua. Tesis profesional de licenciatura en Agronegocios. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/909>. Consultado el 10 de enero del 2017.
- Ruggieri G., Vinci G., Mele G. (1995). Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section* 53: 211-214.
- SAGARPA. (2011). Monografía de cultivos. Subsecretaría de fomentos a los agropecuarios. Disponible en www.sagarpa.gob.mx. Consultado el 28 de Febrero del 2017.
- SAGARPA. (2016). Impulsa SAGARPA fomento a la acuicultura. Disponible en www.sagarpa.gob.mx. Consultado el 11 de enero del 2017.

- Saha S., Roy R., Sen S., Ray A. (2006). Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, 37: 380-388.
- Sargent J.R., McEnvoy L.A., Bell J.G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117-127.
- Sayago A., Marín M.I., Aparicio R., Morales M.T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites*, 58(1).
- Segura J. (2015). Efecto de distintas estrategias de alimentación en el contenido de grasa intramuscular, la estructura de los triglicéridos y las propiedades reológicas de la grasa en el cerdo. Facultad de veterinaria. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.
- Shiau S., Shiau L. (2001). Reevaluated of the vitamin E requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Animal Science*, 72: 529-534.
- SIAP. (2015). Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP). Atlas agroalimentario 2015: Primera edición. México D.F. pp 220.
- SIAP. (2016). Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP). Atlas agroalimentario 2016. Primera edición. México D.F. pp 236.
- Steffens W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151: 97-119.
- Stintzing F., Herbach K., Mosshammer M., Carle R., Yi W., Selliappan S., Akoh C., Bunch R., Felker P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:442-451.
- Storey W.B., Bergh Zentmyer G.A. (1986). The Origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 70:127-143.
- Tacon A. (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Programa Cooperativo Gubernamental. FAO. Documento de campo No. 4. Programa AQUILA I. Brasilia-Brasil.
- Tacon G.J., Cowey C.B. (1985). Protein and amino acid requirements. In: Fish energetic: new perspectives. Tittler, P. & Caiow, P. (eds). Croom Helm, London. pp 155-183.

- Tacon A.G.J., Metian M., Hasan M.R., (2009). Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals. Sources and composition. FAO Fisheries and Aquaculture technical paper, Roma, Italy. 540p.
- Tenorio-Fernández L. (2009). Obtención de un alimento balanceado, extruido a partir de harina de pescado proveniente de *Plecosto punctatus*. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias. Universidad Autónoma de México. Posgrado en ciencias del mar y limnología, 117p.
- Terasawa N., Sakakibara M., Murata M. (2006). Antioxidative activity of avocado epicarp hot water extract. *Food Science Technology Research*, 12: 55-58.
- Tesfay S. Z., Bertling I., Bower J. P. (2010). Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(2): 106-112.
- Teoh C, Turchini G, Wing-Keon N. (2011). Erratum to "Genetically improved farmed Nile tilapia and red hybrid tilapia showed differences in fatty acid metabolism when fed diets with added fish oil or a vegetable oil blend". *Aquaculture*, 316: 144-154.
- Tocher R., Agaba M., Hastings N., Bell G., Dick R., Teale J. (2002). Nutritional regulation of hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition in zebrafish (*Danio rerio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26:157-170.
- Toledo-Pérez S., García-Capote M. (2000). Nutrición y alimentación de tilapia cultivada en América Latina y el Caribe. pp 83-1.
- Torres D., Hurtado N., Victor L. (2012). Requerimientos nutricionales para la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Orinoquia*, 16: 63-68.
- Torres R.G.A., González P.S., Peña S.E. (2010). Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Morphology*, 28(3): 703-712.
- Trewavas E. (1983). A review of the tilapine fish of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum. pp 1-583.
- Turchini G.M., Francis D.S., De Silva S.S. (2006). Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balance method. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 144:110-118.

- Turchini G.M., Ng W.K., Tocher D.R. (2011). Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press Taylor & Francis Group. 522p.
- Ufodike E., Arazu V., Ochinyabo A. (2006). Utility of avocado pear seed (*Persea Americana*), mango seed (*Mangifera Indica*) and bean seed coat (*Phaseolous Vulgaris*) in fish production. *Journal of Aquatic Sciences*, 21(1): 43-45.
- Valenzuela A., Valenzuela R., Sanhueza J., De la Barra F., Morales G. (2014). Fosfolípidos de origen marino: una nueva alternativa para la suplementación con ácidos grasos omega-3. *Revista Chilena de Nutrición*, 41: 433-8.
- Van der Meer M., Zamora J., Verdegem M. (1997). Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 28: 405-417.
- Vega V., Cortés C., Zúñiga M., Jaime B., Galindo J., Basto R., Nolasco H. (2010). Cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). A pequeña escala ¿alternativa alimentaria para familias rurales y periurbanas de México?. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(3): 1-15.
- Valavanidis A., Vlahogianni-T, Dassenakis M., Scoullou M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64:178-189.
- Valenzuela A., Sanhueza J., Barra F. (2012). Aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional. *Revista Chilena de Nutrición*, 39: 201-209.
- Valenzuela A., Sanhueza J., De la Barra F. (2012). El aceite de pescado: ayer un desecho industrial, hoy un producto de alto valor nutricional. *Revista Chilena de Nutrición*, 39: 201-9.
- Vegas E.M.M., Contreras E.S.G. (1994). Effect of dietary crude palm oil and deodorization distillate of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fingerlings. *Aquaculture*, 124: 128.
- Villa-Rodríguez J.A., Molina-Corral F.J., Ayala-Zavala J.F., Olivas G.I., Gonzalez-Aguilar J.A. (2011). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of "Hass" avocado. *Food Research International*, 44: 1231-1237.
- Wagner C., McIntyre P., Buels K., Gilbert D., Michel E. (2009). Diet predicts intestine length in Lake Tanganyika's cichlid fishes. *Functional Ecology*, 23:1122-1131.

- Walter V.T. (2004). Principios de nutrición aplicada al cultivo de peces. Instituto de Acuicultura Universidad de los llanos, Colombia. 66p.
- Wang C.C., Chu C.Y., Chu K.O., Choy K.W., Khaw K.S., Rogers M.S., Pang C.P. (2004). Trolox-equivalent antioxidant capacity assay versus oxygen radical absorbance capacity assay in plasma. *Clinical Chemistry*, 50: 952-954.
- Wang M., Zheng Y., Khuong T., Lovatt C. (2012). Effect of harvest date on the nutritional quality and antioxidant capacity in "Hass" avocado during storage. Department of Botany and Plant Sciences, University of California, Riverside. USA. *Food Chemistry*, 135: 694-698.
- Wilson R.P. (1994). Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124(1-4): 67-80.
- Williams L. (1977). The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subgen. *Persea* *Economic Botany*, 31: 315-320.
- Xiao Z.P., Shi D.H., Li H.Q., Zhang L.N., Xu C, Zhu H.L. (2007). Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of *Helicobacter pylori* urease. *Bioorganic y Medicinal Chemistry*, 15: 3703-3710.
- XU B., Chang S. (2008). Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. *Journal Agricultural and food chemistry*, 56: 8365-8373.
- Yahia D.A., Madani S., Prost E., Bouchenak M., Bellevile J., (2003). Tissue antioxidant status differs in spontaneously hypertensive rats fed fish protein or casein. *America Society for Nutritional Sciences*, 133: 476-482.
- Yan W., Kah-Ha Y., Wing-Keong N. (2006). Deposition of tocotrienols and tocopherols in the tissues of red hybrid tilapia, *Oreochromis spp.*, fed a tocotrienol-rich fraction extracted from crude palm oil and its effect on lipid peroxidation. *Aquaculture*, 253(1-4): 583-591.
- Zentmyer A., Bergh B., Storey B. (1986). The origin, indigenus range and dissemination of the avocado. *California Avocado Society Year book*, 70: 127-133.