

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL Y FUNCIONAL DE LA
SEMILLA DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) COMO FUENTE DE
FITOESTEROLES EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA TILAPIA NILÓTICA
(*Oreochromis niloticus*)**

PRESENTA:

L.C.A. CRISTAL ALEJANDRA GARCÍA CABALLERO

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de: Maestría en Ciencias
en el Área de Ciencias Veterinarias

Director de tesis:

Dr. Ranferi Gutiérrez Leyva

Co-director:

Dr. José Carmen Ramírez Ramírez

Compostela, Nayarit, Junio de 2019.

DEDICATORIA

A mi familia y amigos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ranferi Gutiérrez Leyva por su valioso apoyo y guía durante todo el proceso.

A los Doctores José Carmen Ramírez Ramírez, José Armando Ulloa y Pedro Ulises Bautista Rosales, por su dirección, enseñanzas y apoyo.

A la M.C. Petra Rosas Ulloa, por su apoyo moral y por las asesorías técnicas otorgadas en la preparación analítica de muestras en Tecnología de Alimentos de la UAN.

Al Dr. José Rodríguez Rodríguez por la asesoría profesional en la estancia realizada en el Centro de Calidad del Agua de América Latina y el Caribe del Tecnológico de Monterrey para la determinación analítica de muestras.

A las autoridades del Posgrado en Ciencias Biológicas Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit por la ayuda y atenciones brindadas.

A las autoridades administrativas y académicas de la UAMVZ por las facilidades en el uso de instalaciones y el apoyo logístico.

A mis padres Juan Manuel y Juana Inés por su amor y apoyo incondicional.

A mis hermanas Perla y Rubí por su apoyo en todo momento.

A la familia Caballero Montoya por su hospitalidad y confianza durante todo este tiempo.

A mi amiga Alejandra por su apoyo interminable.

El proyecto de investigación se realizó primordialmente en el Laboratorio de Nutrición Acuícola y en el Laboratorio de Análisis Especiales de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nayarit. Durante el desarrollo del proyecto, se contó con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México mediante la beca de maestría No. 816724.

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1. Generalidades del colesterol, su función, síntesis y transporte en el organismo.....	5
3.2. Tilapia.....	11
3.2.1. Morfología externa.....	14
3.2.2. Morfología interna.....	14
3.3. Requerimientos nutricionales de tilapia.....	16
3.3.1. Requerimientos de proteínas y aminoácidos.....	17
3.3.2. Requerimiento de lípidos.....	18
3.3.3. Requerimiento de carbohidratos.....	19
3.3.4. Requerimiento de vitaminas.....	20
3.3.5. Requerimiento de minerales.....	21
3.4. Semilla de alpiste.....	22
3.4.1. Producción mundial del alpiste.....	22
3.4.2. Descripción de la planta de alpiste.....	22
3.4.3. Composición química del alpiste.....	23
3.4.4. Compuestos fitoquímicos y propiedades funcionales de semilla de alpiste.....	25
3.4.5. Semilla de alpiste en nutrición animal.....	27
3.5. Fitoesteroles.....	28
3.5.1. Fitoesteroles y su actividad hipocolesterolémica.....	31
3.5.2. Fuentes de fitoesteroles.....	33
4. JUSTIFICACIÓN	35
5. HIPÓTESIS	36
6. OBJETIVOS	37
6.1. Objetivo general.....	37
6.2. Objetivos particulares.....	37

7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
7.1. Proceso de fabricación de las dietas experimentales.....	38
7.1.1. Análisis químico proximal y de energía del alimento.....	39
7.2. Pruebas de hidroestabilidad de las dietas experimentales.....	40
7.3. Preparación de muestras para análisis de esteroides en dos etapas.....	41
7.3.1. Extracción y saponificación del extracto graso.....	41
7.3.2. Cuantificación de esteroides.....	42
7.4. Bioensayo de crecimiento en condiciones controladas.....	43
7.4.1. Muestro de sangre y tejidos de tilapia.....	45
7.5. Análisis sensorial de filete de tilapia.....	45
7.6. Extracción de lípidos para análisis de triglicéridos y colesterol.....	46
7.6.1. Análisis de triglicéridos y colesterol.....	47
7.7. Análisis estadístico.....	48
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
8.1. Calidad del agua del sistema experimental.....	49
8.2. Alimentos experimentales para el bioensayo de crecimiento.....	50
8.3. Parámetros zootécnicos.....	54
8.4. Esteroides de semilla de alpiste y dietas experimentales.....	55
8.5. Niveles de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos en sangre, hígado y filete de tilapia.....	57
8.6. Análisis sensorial.....	58
9. CONCLUSIONES.....	60
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
11. ANEXO I.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición lipídica y descripción general de lipoproteínas en animales vertebrados.....	7
Tabla 2. Clasificación taxonómica de tilapia nilótica.....	11
Tabla 3. Concentración de lípidos totales, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos en hígado, sangre y músculo de tilapia nilótica.....	13
Tabla 4. Porcentajes de proteína requerida de acuerdo a la etapa y peso de <i>O. niloticus</i>	17
Tabla 5. Requerimientos de aminoácidos esenciales determinados para tilapia.....	18
Tabla 6. Requerimiento de lípidos determinados para tilapia.....	18
Tabla 7. Requerimiento de vitaminas indispensables para tilapia.....	20
Tabla 8. Requerimientos de macrominerales y microminerales para tilapia.....	21
Tabla 9. Orden taxonómico de la semilla de alpiste.....	22
Tabla 10. Composición química proximal de <i>Phalaris canariensis</i>	24
Tabla 11. Perfil de aminoácidos esenciales de los ingredientes semilla de alpiste, pasta de soya y harina de trigo de comparados con el requerimiento de crecimiento en la tilapia nilótica.....	24
Tabla 12. Contenido de ácidos grasos de semilla de alpiste.....	25
Tabla 13. Valores de vitaminas y minerales de la semilla de alpiste.....	25
Tabla 14. La semilla de alpiste en nutrición animal.....	28
Tabla 15. Efecto hipocolesterolémico de dietas con diferente concentración de fitoesteroles.....	30
Tabla 16. Fuentes más comunes de esteroles vegetales.....	33
Tabla 17. Parámetros de calidad del agua del sistema de cultivo de tilapia analizados durante 60 días.....	50
Tabla 18. Ingredientes y formulación de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento con juveniles de tilapia nilótica.....	51
Tabla 19. Hidroestabilidad, composición química y energética de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento con juveniles de tilapia nilótica.....	52

Tabla 20. Parámetros zootécnicos de <i>O. niloticus</i> determinados al final de 60 días en condiciones controladas de laboratorio.....	54
Tabla 21. Contenido de esteroides (mg/kg) de semilla de alpiste y de dietas experimentales.....	56
Tabla 22. Resultados de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL de <i>O. niloticus</i>	57
Tabla 23. Atributos sensoriales del filete de tilapia.....	58
Tabla 24. Resultados de factores antinutricionales de las dietas experimentales del bioensayo TIL1801-ALP (concluido en 2015), y de los análisis determinados en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (Ciudad de México).....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de la molécula del colesterol.....	5
Figura 2. Estructura general de una lipoproteína.....	6
Figura 3. Metabolismo general de colesterol en el organismo.....	9
Figura 4. Esquema general de absorción de lípidos en peces.....	10
Figura 5. Esquema representativo de la morfología de la tilapia nilótica.....	14
Figura 6. Partes del sistema digestivo de un ejemplar de tilapia nilótica.....	15
Figura 7. Descripción de la planta de alpiste.....	23
Figura 8. Semillas de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) de las variedades C09052 y CDC Calvi desarrolladas en Saskatchewan, Canadá.....	26
Figura 9. Estructura del colesterol y de los principales esteroides vegetales.....	29
Figura 10. Estructuras de esteroides conjugados.....	30
Figura 11. Mecanismos de acción del efecto hipocolesterolemico de los fitoesteroides en el organismo.....	32
Figura 12. Proceso de fabricación de dietas experimentales.....	39
Figura 13. Técnicas utilizadas en el análisis químico nutricional y de energía de los ingredientes y dietas experimentales.....	40
Figura 14. Determinación de estabilidad de dietas experimentales.....	41
Figura 15. Saponificación de extracto graso de semilla de alpiste y dietas experimentales.....	42
Figura 16. Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas	43
Figura 17. Sistema experimental de cultivo utilizado en el bioensayo de crecimiento.....	43
Figura 18 Determinación de parámetros zootécnicos productivos.....	44
Figura 19. Técnica de extracción de sangre, hígado y músculo de <i>O. niloticus</i>	45
Figura 20. Evaluación sensorial de filete de tilapia.....	46
Figura 21. Extracción de lípidos de muestras de hígado y músculo.....	47
Figura 22. Kits utilizados para la determinación de colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos y fotómetro de multiplaca.....	47
Figura 23. Dietas experimentales.....	52

1. RESUMEN

Se estima que en los próximos años el consumo de tilapia en sus diferentes presentaciones aumente más del 50%, la cual será producida principalmente a través de la acuicultura, convirtiéndose en una de las principales fuentes de proteína a nivel mundial. Por ello, actualmente las investigaciones se enfocan en la búsqueda de nuevos ingredientes no convencionales para la alimentación y nutrición de tilapia. En México, un ingrediente con potencial de utilizarse en alimentos balanceados para tilapia es la semilla de alpiste, ya que posee un adecuado contenido proteico y perfil de aminoácidos esenciales, los que son similares a otros granos de cereales que se utilizan convencionalmente como ingredientes para el crecimiento de la tilapia. Además, el alpiste tiene un bajo perfil antinutricional y proporciona un aporte importante de sustancias con propiedades funcionales como es el caso de los fitoesteroles, los cuales disminuyen los niveles de colesterol y triglicéridos en humanos y en diferentes especies animales. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue la evaluación nutricional y funcional de la semilla de alpiste mediante un bioensayo de crecimiento con duración de 60 días en especímenes de tilapia nilótica de 40 g de peso inicial, en donde se determinó la supervivencia, la tasa de crecimiento, ganancia de peso, conversión alimenticia y eficiencia proteica cada 15 días, a través de 4 dietas isoproteicas e isolipídicas, siendo una de ellas la control y tres con diferentes niveles de alpiste (10 %, 20 % y 30 %). Las dietas fueron analizadas para determinar su hidroestabilidad, composición proximal y perfil de fitoesteroles. Por otro lado, también se evaluó la concentración de colesterol total, colesterol unido a lipoproteínas LDL, colesterol unido a lipoproteínas HDL y triglicéridos en filete, hígado y sangre al finalizar el bioensayo, además de la calidad sensorial en términos de sabor, color, olor y textura del filete de tilapia mediante un grupo de consumidores potenciales usando una escalada hedónica no estructurada. Los resultados obtenidos fueron analizados por ANOVA y en su la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($P < 0.05$), excepto los resultados de la evaluación sensorial que se analizaron por medio de la prueba de U Mann-Whitney con un α de 0.05. Los resultados obtenidos demuestran que a niveles de 20% y 30% de inclusión de semilla de alpiste en la dieta se disminuye significativamente la hidroestabilidad de las dietas ($P < 0.05$), además de evidenciarse la presencia de β -sitosterol, seguido por campesterol y estigmasterol. En el caso de los parámetros zootécnicos productivos no se encontraron diferencias significativas entre el control y las dietas con semilla de alpiste. Por otro lado, la

inclusión del 30 % de semilla de alpiste en la dieta redujo el contenido de colesterol LDL y triglicéridos en el filete, a la vez se obtuvo una mayor aceptación por los panelistas en el sabor y olor de los filetes provenientes de los tratamientos con semilla de alpiste. Por lo anterior, la semilla de alpiste puede ser utilizada hasta en un nivel del 30 % en dietas para tilapia sin afectar su crecimiento y mejorando su calidad sensorial, principalmente en sabor y olor, sin embargo se recomienda mejorar los métodos de fabricación del alimento con la finalidad de incrementar la hidroestabilidad de las dietas acuícolas con inclusión de alpiste, ya que al ser una semilla con un alto aporte de salvado o cascarilla, interfiere en la compactación final del alimento.

2. INTRODUCCIÓN

La tilapia nilótica es una especie actualmente producida a nivel mundial a través de la acuicultura en 180 países, debido a que es un pez con características de fácil cultivo, por lo cual se cree que esta especie tendrá un incremento en su producción en cifras superiores al 50 % en los próximos 15 años, debido a que es considerada una importante fuente de proteína animal a nivel mundial (Méndez-Martínez *et al.*, 2018; Méndez-Martínez *et al.*, 2017; FAO, 2016; Deng *et al.*, 2015; James *et al.*, 2013). Este incremento en su producción plantea una serie de problemáticas dentro de la cadena productiva que deben atenderse como lo son: el incremento de los precios del alimento, presencia de enfermedades ligada a la intensificación de los sistemas productivos con una nutrición deficiente de los peces y en los últimos años la inquietud de generar valor agregado a la cadena productiva (Méndez-Martínez *et al.*, 2017; Tacon y Metian, 2015; Oliva, 2012; Arosamena, 2009). Una de las alternativas para contrarrestar los problemas anteriormente mencionados es la búsqueda de nuevos ingredientes no convencionales para ofrecer nuevas alternativas nutricionales para tilapia que sean de alto valor nutrimental, alta disponibilidad, bajo costo y bajo perfil antinutrimental (Valdez-González *et al.*, 2018).

En México un ingrediente con potencial de utilizarse en dietas para tilapia es la semilla de alpiste. Este insumo es principalmente producido en países como Canadá, seguido por algunos países de Asia, Europa y África (Mason *et al.*, 2018; Salah *et al.*, 2017; FAOSTAT, 2016). Tradicionalmente, el alpiste, se utiliza para la alimentación de aves enjauladas u ornamentales (Yaguez, 2002; Miravalles *et al.*, 2002), sin embargo en los últimos años esta semilla ha sido incluida como ingrediente en alimentos balanceados para cerdos y aves de corral como un reemplazo parcial del trigo y otras semillas (De la Cruz, 2017; Classen *et al.*, 2014; Newkirk *et al.*, 2011), debido a que posee un contenido proteico entre 17% y 23 %, el cual es mayor que en otras semillas de su misma familia (Salah *et al.*, 2017; INIAP, 2016; CDCS, 2011; Abdel-Aal *et al.*, 2011).

Actualmente no se han reportado efectos negativos al incluirla en dietas para humanos ya que dentro de la cultura popular la leche preparada a partir de esta semilla se utiliza como

tratamiento para diversos padecimientos, como la hipercolesterolemia, control de los niveles de triglicéridos, entre otras, por ser una buena fuente de fitoesteroles y otros compuestos con efectos positivos sobre la salud (CDCS, 2017; Salah *et al.*, 2017; Estrada, 2013; García, 2012; Cuellar y Porcel, 2010). Sin embargo, no hay evidencias sobre el uso de esta semilla en la nutrición y su efecto en el metabolismo lipídico de peces dulceacuícolas como es el caso de tilapia nilótica. Por lo cual, el objetivo de este estudio fue evaluar la semilla de alpiste desde el punto de vista nutrimental y funcional como fuente de fitoesteroles en dietas balanceadas para tilapia nilótica, ya que en los últimos años las personas tienen un alto interés en consumir productos de origen animal con mayor calidad nutrimental. Por lo tanto, estos atributos son deseables para favorecer el consumo de carne de tilapia baja en grasa o con un valor agregado que promueva la salud del consumidor (Lobato, 2000).

3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades del colesterol, su función, síntesis y transporte en el organismo.

El colesterol (Figura 1) es vital para el organismo ya que desempeña funciones de gran importancia, entre las que destacan el ser componente estabilizador de membranas celulares dándoles resistencia y fluidez, actúa como precursor de vitamina D, hormonas sexuales y sales biliares implicados en la emulsión de lípidos en el duodeno durante la digestión, además forma parte de las lipoproteínas circulantes del organismo, ya que sin estas últimas sería imposible su transporte por ser una sustancia del tipo lipídica (Fernández y Ruiz, 2018; Palou *et al.*, 2005; Chasman *et al.*, 2004).

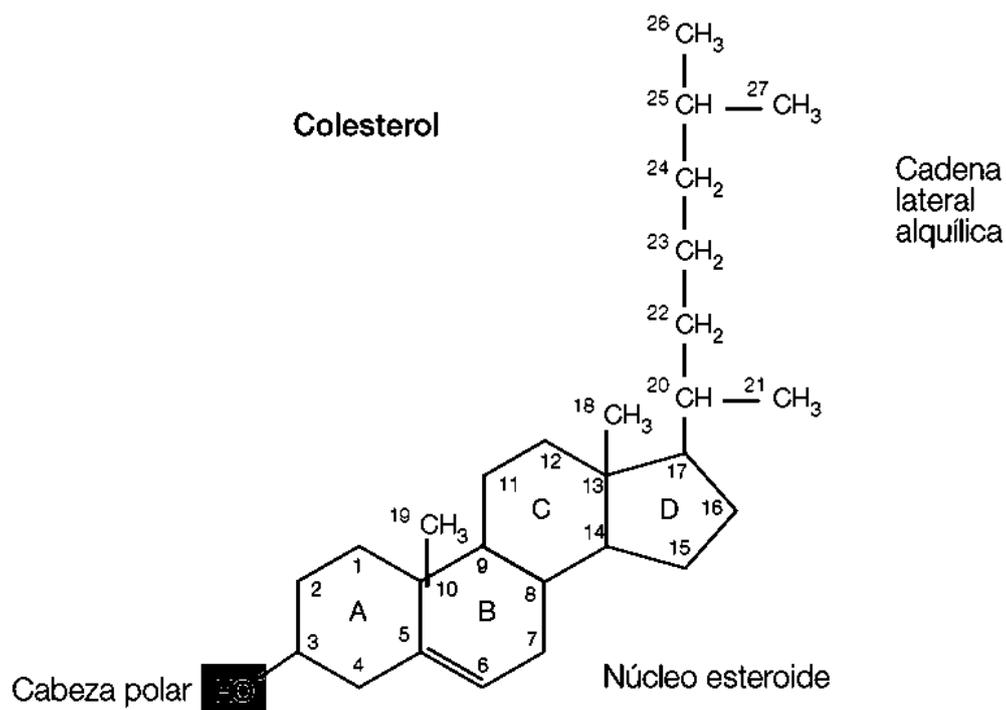


Figura 1. Estructura química de la molécula del colesterol (Palou *et al.*, 2005).

Las lipoproteínas son complejos de macromoléculas compuestos por proteínas y lípidos que transportan masivamente las grasas por todo el organismo. Están formadas por un núcleo hidrofóbico de triglicéridos y esteres de colesterol, los cuales están rodeados por una monocapa

de colesterol libre, fosfolípidos y proteínas. Las lipoproteínas ayudan en la solubilización de los lípidos circulantes, ya que son reconocidas por receptores específicos localizados en las membranas celulares (Figura 2).

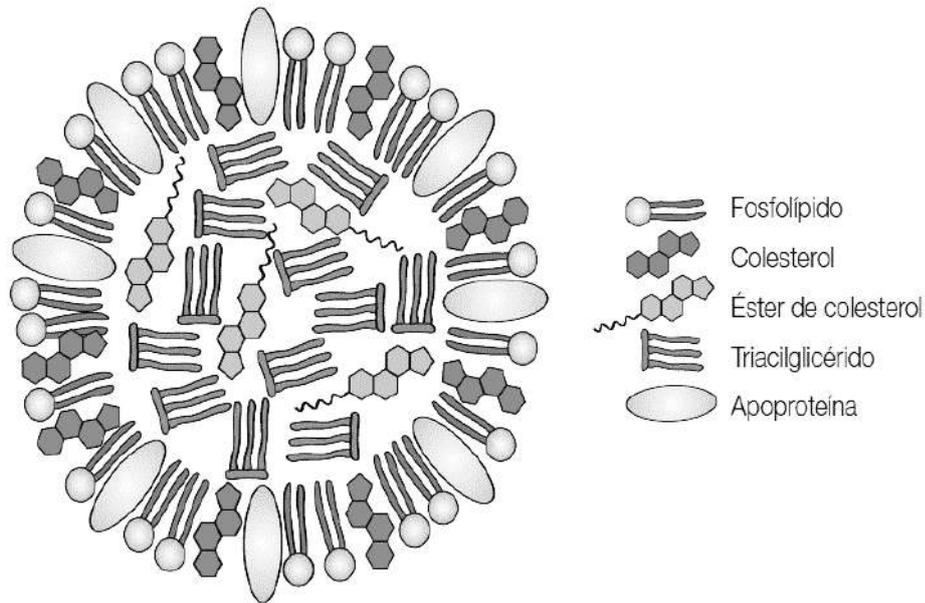


Figura 2. Estructura general de una lipoproteína (Palou *et al.* 2005).

Las lipoproteínas se dividen en 4 grupos de acuerdo a su densidad, tamaño, composición lipídica (triglicéridos y colesterol) y función, dentro de las cuales encontramos a los quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Fernández y Ruiz, 2018; Argueso *et al.*, 2011; Palou *et al.*, 2005, Nauck *et al.*, 2002).

En modelos de estudios nutricionales con peces en donde se evalúan dietas con características hipocolesterolémicas se requiere estudiar el papel de estas lipoproteínas para determinar el metabolismo del colesterol en el animal. La descripción general del papel que juegan estas moléculas complejas se presentan en la Tabla 1.

Las referencias que se tienen acerca del uso y aprovechamiento del colesterol dietario provienen de investigaciones realizadas en humanos, en dichos estudios se determina que el colesterol se puede obtener de manera exógena a través de la dieta (alrededor de 300 mg/día en la dieta

occidental) y de manera endógena al ser sintetizado en el hígado mediante precursores, siendo este órgano la parte central en la regulación del metabolismo del colesterol, ya que es capaz de absorberlo, sintetizarlo y secretarlo, además de facilitar su recirculación entre el plasma y los compartimientos enterohepáticos a través de algunas lipoproteínas circulantes.

Tabla 1. Composición lipídica y descripción general de lipoproteínas en animales vertebrados.

Lipoproteína	Densidad (kg/L)	Colesterol (%)	Triglicéridos (%)	Síntesis	Descripción
Quilomicrones	< 0.95	5-15	85-95	Se sintetizan en el retículo endoplásmico de las células del epitelio del intestino delgado.	Transportan lípidos de la dieta (colesterol y triglicéridos) a hígado y al organismo.
Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)	< 1.006	20-30	50-60	Sintetizadas en hígado.	Son las encargadas del transporte endógeno de lípidos.
Lipoproteínas de baja densidad (LDL)	1.006-1.063	50-60	4-8	Formadas a partir de la degradación de las VLDL por la acción de una enzima lipasa.	Son productos finales del metabolismo de las VLDL y son las encargadas del transporte y del depósito del colesterol desde hígado hasta tejidos periféricos.
Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	1.063-1.21	20-30	< 4	Sintetizadas en hígado e intestino delgado.	Son protagonistas del transporte reverso del colesterol desde tejidos periféricos hasta el hígado para su eliminación biliar.

Las referencias que se tienen acerca del uso y aprovechamiento del colesterol dietario provienen de investigaciones realizadas en humanos, en dichos estudios se determina que el colesterol se puede obtener de manera exógena a través de la dieta (alrededor de 300 mg/día en la dieta occidental) y de manera endógena al ser sintetizado en el hígado mediante precursores, siendo este órgano la parte central en la regulación del metabolismo del colesterol, ya que es capaz de absorberlo, sintetizarlo y secretarlo, además de facilitar su recirculación entre el plasma y los compartimientos enterohepáticos a través de algunas lipoproteínas circulantes. En este órgano los hepatocitos captan a los quilomicrones, productos del metabolismo de lípidos de la dieta, por lo cual estos son el punto de partida de los lípidos del hígado al organismo (Palou *et al.*,

2005; Molina *et al.*, 1991). Al ser obtenido por medio de estas dos vías el colesterol puede iniciar su metabolismo el cual consiste en dos etapas: la primera inicia cuando el colesterol junto a los ácidos grasos obtenidos por medio de la dieta son absorbidos en el intestino por la intervención de una enzima de origen pancreático denominada acil-coenzima A colesterol-aciltransferasa (ACAT) para ser incorporado en las micelas mixtas siendo transferido activamente a los enterocitos a través de la proteína transportadora Niemann-Pick C1 tipo 1 (NPC1) que se ubica en la membrana apical de los enterocitos (Palou *et al.*, 2005; Sanhueza *et al.*, 2012). Posteriormente la segunda etapa se inicia una vez que se realizó el transporte de los triglicéridos por los quilomicrones, los cuales son hidrolizados por la lipasa de lipoproteínas (LPL) produciendo un descenso de los triglicéridos entre 80 % y 90 % a nivel sanguíneo, de esa manera los ácidos grasos restantes son almacenados como reservorio energético en el tejido adiposo, finalmente los quilomicrones son digeridos en el hígado por medio de lisosomas hepáticos liberándose así el colesterol, el cual será usado en la síntesis de lipoproteínas (Sanhueza *et al.*, 2012; Palou *et al.*, 2005).

También se precisa en tales investigaciones que la síntesis endógena del colesterol realizada en hígado se relaciona con las necesidades nutricionales del organismo, esta se lleva a cabo dentro de los hepatocitos, donde se fabrica colesterol a partir de acetil-coA, siendo la hidroximetilglutaril-CoA sintasa la enzima que limita este proceso al haber colesterol dietario en exceso (Palou *et al.*, 2005). Por lo tanto una vez sintetizado el colesterol endógeno, el hígado lo libera por medio de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) las cuales transportan la mayoría de los triglicéridos sintetizados en el hígado provocando el aumento de los triglicéridos en la sangre (Miguel, 2009). Posteriormente las lipoproteínas VLDL se convierten finalmente a lipoproteínas de baja densidad (LDL) quienes son las encargadas de repartir el colesterol a las diferentes células del organismo empleándolo en la síntesis de hormonas, vitamina D y sales biliares, sin embargo un aumento excesivo de lipoproteínas de baja densidad (LDL) se relaciona con el riesgo de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Miguel, 2009).

Por último con el fin de mantener la homeostasis de lípidos y eliminar el exceso del colesterol intracelular, las células del cuerpo utilizan las lipoproteínas de alta densidad (HDL), las cuales remueven el colesterol desde tejidos periféricos hasta el hígado por medio de la denominada vía del transporte reverso, una vez hecho este proceso el organismo no es capaz de

metabolizarlo totalmente y parte de este colesterol debe ser eliminado a través de la síntesis de ácidos biliares, este procedimiento se ilustra en la Figura 3 (Sanhueza *et al.*, 2012; Argueso *et al.*, 2011; Palou *et al.*, 2005).

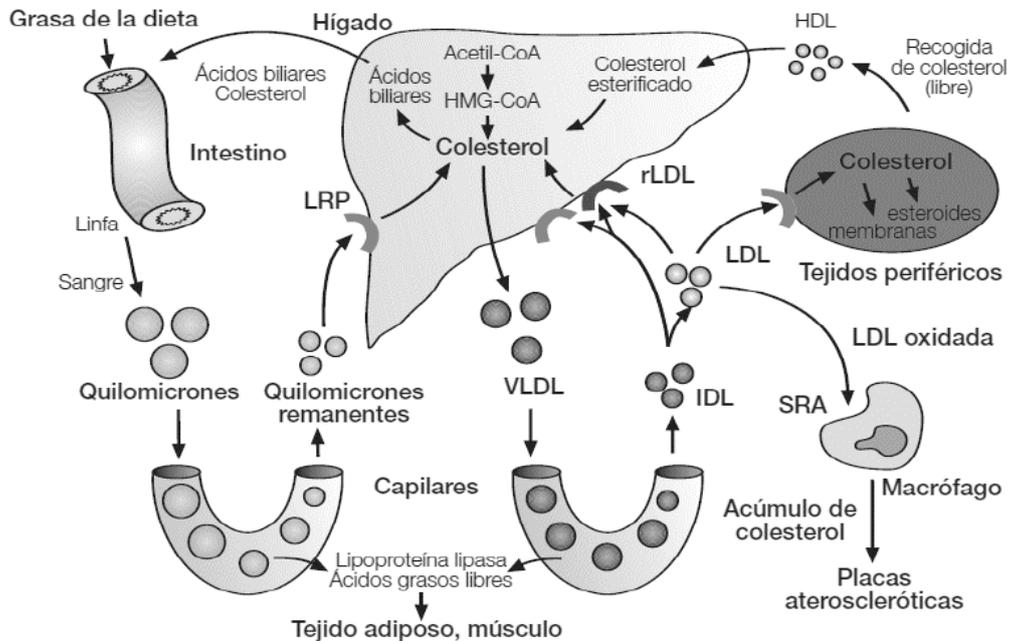


Figura 3. Metabolismo general de colesterol en el organismo (Palou *et al.* 2005).

En el caso de los peces la digestión de los lípidos de la dieta, principalmente triglicéridos y colesterol se realiza de manera similar a la de los mamíferos. Los triglicéridos se hidrolizan en el lumen intestinal por lipasas pancreáticas, mientras que la síntesis endógena de lípidos se realiza principalmente en el hígado, como se ha demostrado en trucha y lubina principalmente (Castello, 1993). De acuerdo a lo anterior, se propuso un modelo general de absorción de los lípidos de la dieta en peces como se muestra en la Figura 4, la cual nos podría dar un indicio sobre el metabolismo del colesterol y lipoproteínas circulantes en peces ya que en esta podemos ver que según el nivel y calidad de lípidos de la dieta varía su digestibilidad y su absorción, así como la acumulación en el cuerpo del pez.

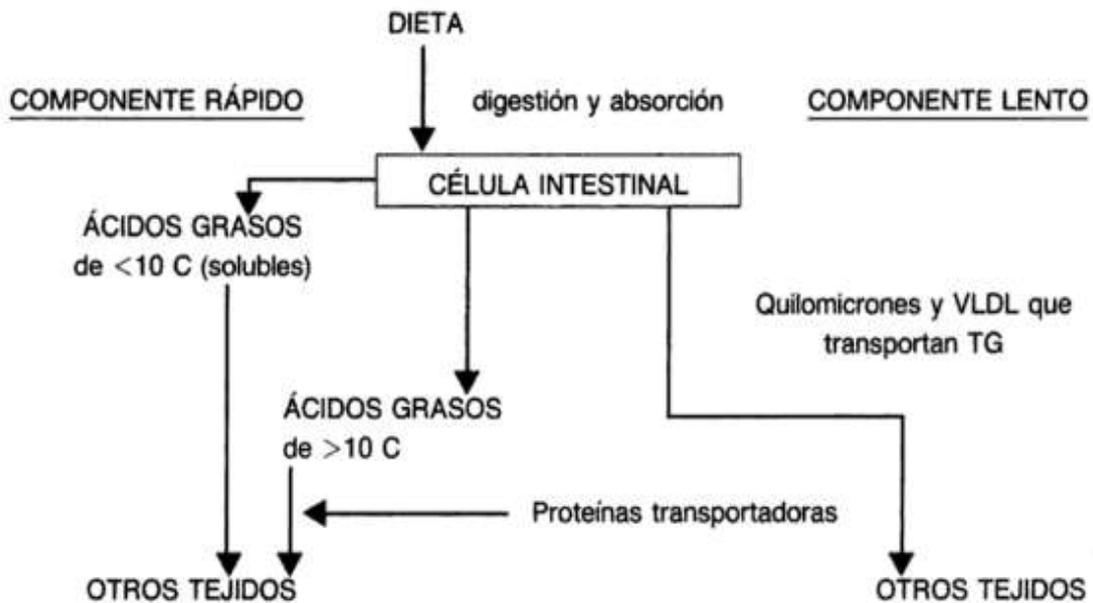


Figura 4. Esquema general de absorción de lípidos en peces (Castello, 1993).

Lo anterior ha sido probado por Quinlivan *et al.* (2017), quienes usaron al pez cebra (*Danio rerio*) como modelo biológico, en el cual demostraron la importancia del colesterol dietario, su absorción y su efecto en el depósito de ácidos grasos en el organismo de los peces, reportando que al haber una menor cantidad de colesterol en la dieta y una gran cantidad de inhibidores para su esterificación en el intestino, la incorporación de ácidos grasos a los ésteres de colesterol es muy baja provocando una menor tasa de absorción y un bajo depósito a nivel organismo.

Estos elementos descritos en el estado del arte indican que el proceso de síntesis, transporte y utilización del colesterol en animales vertebrados como los peces se puede estudiar como una respuesta modulada a través del alimento, y es posible determinar su deposición en el organismo.

El estudio de colesterol y lípidos en peces se ha enfocado principalmente en el efecto de la dieta sobre el metabolismo de este en diferentes especies, un ejemplo de esto fue lo reportado por de Xu *et al.* (2018), quienes estudiaron el efecto de diferentes niveles de colesterol (Control, 0.4 %, 0.8 %, 1.2 %, 1.6 % y 2.4 %) en la dieta de tilapia nilótica cultivada en agua salobre, encontrando como resultado que los diferentes niveles de colesterol dietario no afectaron la supervivencia de dicha especie comparados contra el control, sin embargo encontraron que en

función del aumento de colesterol en la dieta existió un aumento del colesterol LDL a nivel sanguíneo, por otro lado reportaron que aquellos organismos alimentados con niveles del 0.4 % de colesterol en la dieta presentaron mejores ganancias de peso y mayores tasas de crecimiento.

Por su parte Sissenner *et al.* (2018) estudiaron el efecto de incorporar colesterol en la dieta de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), los cuales reportaron que a mayor colesterol dietario hubo una tendencia a producirse mayor cantidad de colesterol endógeno y por lo tanto transportarse hacia la sangre para finalmente depositarse en el organismo similarmente a lo que pasa con el colesterol dietario en humanos (Figuras 3 y 4).

3.2. Tilapia.

Tilapia, comúnmente se refiere a un grupo de peces cíclidos que consiste mayoritariamente en tres géneros de importancia económica: *Tilapia*, *Oreochromis* y *Sarotherodon*, las cuales, todas son conocidas comúnmente como "tilapia" (Mjoun *et al.*, 2010). Por otro lado en la Tabla 2 se muestra la clasificación taxonómica de la tilapia.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de la tilapia nilótica.

Reino	<i>Metazoa</i>
Phyllum	<i>Chordata</i>
Subphyllum	<i>Vertebrata</i>
Clase	<i>Osteichtyes</i>
Orden	<i>Perciforme</i>
Familia	<i>Cichlidae</i>
Genero	<i>Oreochromis</i>
Especie	<i>Oreochromis niloticus</i>

*Tomada de Basantes (2015).

Por ser una especie tropical su temperatura de cultivo oscila entre los 20 °C y 30 °C, son originarias del continente Africano y actualmente se encuentran distribuidas en la mayoría de los países tropicales y subtropicales habitando aguas dulces y salobres de África, Medio Oriente, India, América Central y el Caribe, incluyendo Cuba; sin embargo, en los últimos años debido a su introducción por el hombre, está distribuida en las zonas tropicales de Asia y

Oceanía (Mora, 2016). En México se empezó a producir desde 1964, a partir de ejemplares procedentes de la Universidad de Auburn, Alabama (Estados Unidos de América) y mantenidos en la estación piscícola de Temascal, Oaxaca y desde entonces, las producciones de este recurso se han incrementado notablemente. Es cultivada en 31 estados del país, siendo los mejores sitios para su desarrollo las zonas tropicales del estado de Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Michoacán, Veracruz y Sinaloa por mencionar algunos ejemplos (Hernández *et al.*, 2003).

De manera general, la tilapia nilótica al igual que otras especies de tilapia presentan una serie de características que las hacen candidatas ideales para la acuicultura, dentro de las cuales se encuentran; una alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, fácil reproducción, alta resistencia a enfermedades, alta productividad, rápida aceptación a todo tipo de alimentos tanto naturales como artificiales, incluyendo los producidos por medio de fertilización orgánica o química (FAO, 2012; FAO, 2005; Hurtado, 2005).

Según datos de CORPEI (2005) los principales factores que motivan el consumo de tilapia en Estados Unidos son los beneficios para la salud del consumidor, disponibilidad, precios convenientes y consistentes durante todo el año, durabilidad del pescado fresco, etc. (Saez *et al.*, 2013).

Se encuentra en la categoría de peces de bajo contenido de lípidos de menos del 5 % pero con alto contenido proteico entre 15 % y 20% presentando una excelente calidad nutricional. Sin embargo, la concentración de lípidos totales en el músculo de la misma puede variar en función de la época del año y el tipo de dieta (Nguyen, 2010; El-Sayed, 1984). También se han reportado diversas concentraciones de lípidos totales, colesterol total, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y triglicéridos bajo diferentes condiciones ambientales de cultivo y mediante diferentes regímenes alimenticios como se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentración de lípidos totales, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos en hígado, sangre y músculo de tilapia nilótica.

Objetivo de estudio	Muestra de estudio	Triglicéridos (mmol/L)	Colesterol total (mmol/L)	Colesterol HDL (mmol/L)	Colesterol LDL (mmol/L)	Lípidos totales (%)	Fuente de consulta
Sustituir proteína animal por mezclas de harinas vegetales (100 %).	Músculo	NR	NR	NR	NR	5.3	Montoya-Camacho <i>et al.</i> , 2018.
Variación de lípidos en diferentes épocas del año.	Sangre	2.9	4.8	NR	NR	NR	Moya <i>et al.</i> , 2018.
Efecto de la inclusión de la quercetina en la dieta	Sangre	0.8	310	39	1.7	NR	Shao-Wei y Shu-Lan, 2016.
Dietas a base de harina de pescado (12 %) y mezclas de harinas vegetales (75 %).	Sangre	NR	7.3	2.3	3.8	NR	Mehrim, 2014.
Efecto del aceite de palma en la dieta.	Sangre	NR	3.1	NR	NR	NR	Viera <i>et al.</i> , 2013.
Efecto del aceite de girasol y linaza en la dieta (3:3)	Sangre	2.7-4.0	3.2	1.1	NR	NR	Malhaes <i>et al.</i> , 2011.
Efecto del sorgo alto en taninos en la dieta (30%).	Músculo	2.7	2.8	NR	NR	12	Aiura y Barbieri, 2007.
Efecto del sistema de cultivo	Sangre	ND	2.2	NR	NR	NR	Mauel <i>et al.</i> , 2007.
Efecto del aceite de maíz al 2 %, 4 % y 6 % en la dieta.	Músculo	0.1	0.1	NR	NR	NR	El-Hanafy <i>et al.</i> , 2006.

NR = No reportado en las bases consultadas.

A nivel mundial se ha estimado que la tilapia nilótica presentará un incremento del 50 % sobre el nivel de consumo actual en los próximos 30 años. Estos niveles de incremento serán

abastecidos principalmente por la acuicultura continental, lo cual representa aproximadamente un 75 % de incremento sobre los niveles actuales de producción de peces dulceacuícolas (Méndez-Martínez *et al.*, 2018; FAO, 2016; James *et al.*, 2013). En términos de producción *O. niloticus* representa el 80 % de la producción mundial de tilapias de interés comercial, seguida por *O. mossambicus* con el 5 % (Alceste, 2000). Aunado a lo anterior, en México la producción de tilapia aumentó significativamente en los últimos 10 años generando una tasa de incremento del 25 % respecto al resto de producción en América Latina (FAO, 2018).

3.2.1. Morfología externa

En cuanto a su anatomía general externa (Figura 5), su cuerpo es comprimido, a menudo discoidal y raramente alargado, su aleta dorsal y su aleta anal son cortas, la aleta caudal esta redondeada. La piel está cubierta de escamas, su boca es ancha y bordeada de labios gruesos (Arteaga *et al.*, 2012).

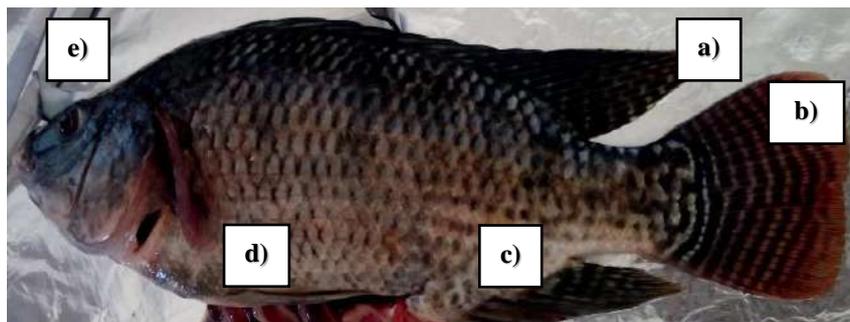


Figura 5. Morfología externa de la tilapia nilótica: a) aleta dorsal, b) aleta caudal, c) aleta anal, d) aleta pélvica y e) cabeza.

3.2.2. Morfología interna

En relación a su morfología digestiva, la boca de la mayoría de las tilapias presenta dientes pequeños los cuales pueden tener 1 y 3 picos y cuentan con un esófago muy elástico, el que secreta una sustancia viscosa para que el bolo alimenticio avance hacia el estómago, además el esófago cuenta con un sistema de faringe armado de dientes el cual prensa y mezcla el alimento para su posterior digestión lo cual a su vez aumenta los fluidos intestinales (Trewavas, 1983).

El hígado es un órgano en donde se almacena el glucógeno, se producen enzimas que ayudan a la digestión y una variedad de otras sustancias como: hormonas y moléculas de importancia, no tiene una forma particular, sino que ocupa el espacio que hay entre el estómago y el corazón (Cano, 2016).

El estómago de estos peces no se encuentra bien diferenciado como lo presentan otros vertebrados. Tiene una forma de “U” apuntando hacia la boca (Guevara, 2003; Trewavas, 1983). Por su parte, el intestino es un tubo largo y delgado con una doble capa de musculatura, es un órgano complejo y multifuncional, que absorbe y regula de manera endocrina la digestión de metabolitos y además mantiene el balance de electrolitos y del agua, e interviene en el proceso inmunológico del organismo, se divide en intestino anterior, medio y posterior y cada una de estas regiones son funcionalmente diferentes. Se caracteriza por ser largo y delgado de 5 a 7 veces del largo total de su cuerpo y presenta un pH entre 7.5 y 9.0 (Escobar, 2006). Sigue un curso complejo que incluye múltiples irregularidades acompañadas de vueltas, anillos y roscas anidadas una sobre la otra. Se identifican cinco regiones principales designadas como región hepática (RH), anillo proximal mayor (APM), irregularidad gástrica (IG), anillo distal mayor (ADM) y segmento terminal (ST) según Smith *et al.* (2000).

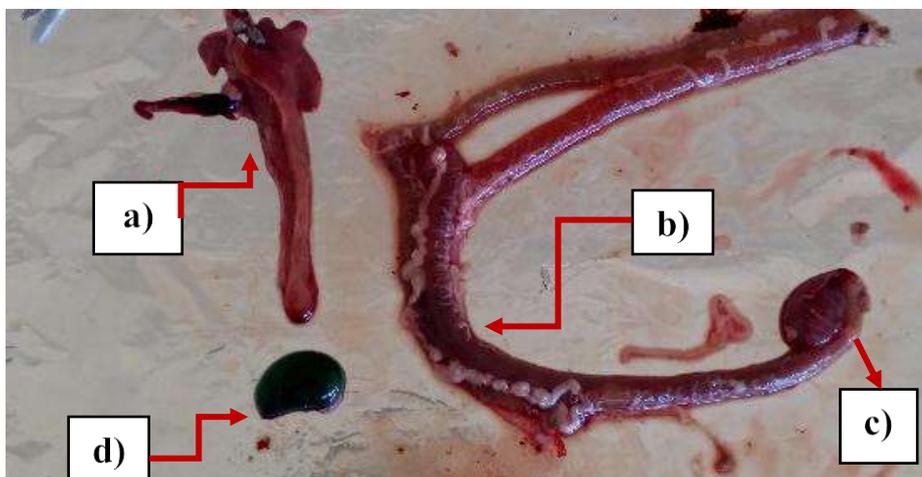


Figura 6. Partes del sistema digestivo de un ejemplar de tilapia nilótica: a) hígado, b) intestino, c) estómago y d) bilis.

3.3. Requerimientos nutrimentales de la tilapia.

Los nutrimentos requeridos por estos peces en crecimiento, reproducción y otras etapas fisiológicas son semejantes a aquellos requeridos por las especies terrestres. En un ambiente natural, las tilapias se alimentan de una amplia variedad de recursos, desde plancton, organismos bentónicos, invertebrados de la columna de agua, larvas de peces, detritus, materia orgánica en descomposición, etc. (Alcantar *et al.*, 2014).

En general, la mayoría de las tilapias tienen una tendencia a ser herbívoras, aunque la tilapia es básicamente fitoplanctívora, también suele consumir huevos, larvas, gusanos y ciertos peces pequeños (alevines), por lo que en muchos países es utilizada para limpiar estanques de insectos dañinos y otras plagas (Alcantar, *et al.*, 2014). También puede llegar a aceptar otros tipos de alimentos de origen natural como el polvillo de arroz, harina de soya, trigo, maíz, plantas acuáticas como *Lemna* (lenteja de agua) y en general todo resto de productos naturales; así como también acepta sin problemas los alimentos artificiales o balanceados (Moyano, 2006).

El alimento comercial para tilapia generalmente es extruido, en general la calidad y cantidad de nutrimentos como aminoácidos, carbohidratos, lípidos, premezcla de minerales, premezcla de vitaminas y otros aditivos por medio de este proceso industrial se conservan en porcentajes superiores al 95 % todo esto para mantener un adecuada tasa de crecimiento (Guerrero, 2016). Por otro lado es necesario que el alimento cuente con un alto valor proteico y energético, que sea uniforme y adecuado a la talla del pez (García y González, 2017) ya que las exigencias nutrimentales de los alevines son iguales a la de las tilapias adultas en términos cualitativos, sin embargo en términos cuantitativos, las exigencias son mayores en peces jóvenes que en adultos (Torres *et al.*, 2012).

Aunque no se dispone de información para ciertas etapas del ciclo de vida de la tilapia, se espera que los juveniles tempranos (0.02-10 g) requieran de una dieta más elevada en proteínas, lípidos, vitaminas y minerales e inferior en carbohidratos. Los juveniles (10-25 g) requieren más energía de los lípidos y carbohidratos y una menor proporción de proteínas para su crecimiento y finalmente los peces adultos (> 25 g) requieren aún menos proteína dietética y mayores niveles de carbohidratos como fuente de energía. Es decir, a medida que los individuos

van creciendo, requieren un menor nivel proteico para obtener la energía (Ctaqua, 2017; Torres *et al.*, 2012).

3.3.1. Requerimientos de proteínas y aminoácidos.

Las proteínas son componentes esenciales, consideradas como el constituyente más importante de cualquier célula viviente, representan el grupo químico más abundante en el cuerpo de los animales, a excepción del agua. Es el componente dietario de más importancia, debido a que es el constituyente básico de las células, es fuente de energía y es fundamental para el crecimiento de los peces; como ingrediente es el componente más costoso (García y González, 2017). Por otro lado, si se proporciona a los peces una dieta baja de proteína o con una composición inadecuada de aminoácidos, esto repercutirá principalmente en el crecimiento de los mismos, también disminuirá la eficiencia alimenticia y habrá pérdidas de peso, sin embargo si la proteína es proporcionada en exceso, solo una parte será usada en la formación de tejidos y lo restante será usado como energía (García y González, 2017; Iregui, 2000). Aunado a lo anterior los requerimientos de proteína para un óptimo crecimiento dependen de la calidad de la fuente proteica, del tamaño del pez y del contenido energético de la dieta (FAO, 2018; El-Sayed, 2003).

El rango de variación del contenido proteico según la etapa del ciclo de vida de la tilapia viene expresado en la Tabla 4.

Tabla 4. Porcentajes de proteína requerida de acuerdo a la etapa y peso de *O. niloticus*.

ETAPA	ALEVÍN	CRÍA	JUVENILES	ENGORDE	ENGORDE
Forma	Harina	Migaja triturada	Extruido flotante	Extruido flotante	Extruido flotante
Proteína (%)	50-53	44-45	35	30-32	25-30
Peso vivo (g)	1-5	5-50	50-100	100-350	350 o más

Tomada de Jiménez (2013).

Con respecto a los aminoácidos esenciales (AAE), la tilapia nilótica requiere los mismos 10 aminoácidos esenciales que otros peces en cultivo (FAO, 2017), como se puede observar en la Tabla 5.

Tabla 5. Requerimiento estimado de aminoácidos esenciales determinados para tilapia.

Aminoácidos esenciales	FASE		
	Cría (5-50 g)	Juvenil (50-100 g)	Adulto (100-350 g)
Lisina	2.2	1.53	1.38
Metionina	0.75	0.52	0.47
Metionina + cistina	1.32	0.92	0.83
Treonina	1.70	1.18	1.07
Arginina	1.81	1.26	1.14
Fenilalanina+ tirosina	2.38	1.65	1.56
Histidina	0.75	0.52	0.47
Isoleucina	1.34	0.93	0.84
Leucina	1.46	1.01	0.92
Triptófano	0.43	0.30	0.27
Valina	1.20	0.83	0.75

Tomada de Furuya (2010).

3.3.2. Requerimiento de lípidos.

Los lípidos, encontrados tanto en tejidos animales como vegetales, pueden utilizarse como fuente de energía, permitiendo que las proteínas, nutrientes con mayor valor nutricional, se destinen de forma exclusiva para el crecimiento, por lo cual se ha establecido un porcentaje de inclusión de lípidos óptimo de un 10 % al 15 % en la dieta para tilapia, mejorándose el crecimiento y el uso de proteínas (Ng *et al.*, 2004), ya que se ha demostrado retraso en el desarrollo al utilizar por arriba de 20 % de lípidos en la dieta (Chou y Shiau, 1996). Los requerimientos de lípidos para tilapia se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Requerimiento de lípidos determinados para tilapia.

Etapa	Rango de peso (g)	Requerimiento de lípidos (%)
Alevín	1-5	12-15
Cría	5-50	6-15
Juvenil	50-100	3-8
Engorde	100-350	3-6
Engorde	350 o más	2-6

Tomada de Hernández y Jiménez (2013).

Se ha comprobado que la tilapia acepta diferentes fuentes de lípidos; por ejemplo, Moreno *et al.* (2013) evidenciaron que al utilizar diferentes aceites vegetales (palma, semilla de chía y semilla de lino) en sustitución de aceite de pescado, no afectó la supervivencia, biomasa final,

ganancia diaria de peso, consumo aparente de alimento y tasa específica de crecimiento de esta especie. Este estudio es respaldado por una investigación doctoral en nutrigenómica realizada por Tupac (2016), en la que se sustituyó el aceite de pescado por aceites vegetales de lino, girasol y girasol alto-oleico en la dieta de tilapia, lo cual puso en manifiesto que es posible sustituir el aceite de pescado sin generar efectos negativos en el bienestar animal del pez. Por otro lado, Triana *et al.* (2013) demostraron que el uso de aceite de soja en la dieta de alevines de tilapia híbrida (*Oreochromis* spp.) rica en ácidos poliinsaturados omega 6 mejoró el rendimiento productivo y disminuyó la incidencia de lipidosis hepática (acumulación de grasa en el hígado) en comparación con el aceite de pescado.

3.3.3. Requerimiento de carbohidratos.

Después de las proteínas y los lípidos, los carbohidratos representan el tercer grupo de compuestos orgánicos más abundantes en el cuerpo animal y constituyen los nutrientes principales del tejido vegetal. Aunque son considerados en general fuente importante de energía en la dieta, no ocurre lo mismo en peces, ya que presentan una baja tasa de utilización y metabolización de los mismos (Noel, 2003). En el caso de la tilapia, según la FAO (2017), esta especie puede llegar a utilizar eficientemente hasta un 40 % de carbohidratos no digeribles, y es capaz de utilizar altos niveles de carbohidratos digeribles de la dieta (30-90 %). No obstante que su digestibilidad puede ser muy variable en la dieta, estas fuentes son proporcionados a menudo por ser los ingredientes más baratos de las fórmulas de alimentos en peces, como es el caso del maíz, el trigo y el arroz (Fitzsimmons, 2005). Además, éstos presentan también propiedades aglutinantes en los pellets y ciertas fuentes de carbohidratos sirven como constituyentes dietéticos que aumentan la textura del alimento (FAO, 2017). El requerimiento de carbohidratos en la tilapia se ha estimado para estadios de alevín-juvenil en 25 % y para etapas de engorda de 25 % a 30 %.

3.3.4. Requerimiento de vitaminas.

De las vitaminas, la C es un nutriente crítico en la dieta para los peces ya que es un cofactor de la hidroxilación (incorporación de un grupo OH a la molécula) de la prolina y lisina para formar hidroxiprolina necesaria para la síntesis de precolágeno, el cual es precursor del colágeno requerido en la formación de tejido conectivo, tejido de granulación y matriz ósea (Torres *et al.*, 2012).

En sistemas de cultivo intensivo es necesaria la incorporación de suplementos vitamínicos a la dieta ya que generalmente la fuente de alimentación natural disponible es limitada. En cualquier caso, las necesidades de cada tipo de vitaminas dependen de la especie, la talla, el ambiente y el estrés fisiológico que tenga el animal, ya que cuando los peces se estresan, pueden llegar a requerir entre un 5 % y 10 % más de vitaminas para un correcto desarrollo y crecimiento. Afortunadamente existen reservas de vitaminas en el hígado y otros órganos, por lo que el requerimiento de las mismas no es diario mientras éstas se reemplacen de forma adecuada (Castelló, 2013).

En general, los requerimientos de vitaminas en la tilapia solo se han determinado para algunas especies, los cuales son modificados por el tipo de cultivo, la talla, edad, tasa de crecimiento de los peces, debiéndose tomar en cuenta que parte de las vitaminas se pierden durante el procesamiento y almacenaje del alimento por factores ambientales e interrelaciones con otros nutrientes. Por otro lado se han determinado algunos de los principales requerimientos de algunas vitaminas para tilapia como se muestra en la Tabla 7 (Torres *et al.*, 2012; Olvera y Olivera, 1996).

Tabla 7. Requerimiento de vitaminas indispensables para tilapia.

Vitaminas	Requerimiento (mg/kg de alimento)
Vitamina E	20–100
Riboflavina	6
Ácido pantoténico	10
Vitamina C	50

Tomada de Olvera y Olivera (1996).

3.3.5. Requerimientos de minerales.

Con respecto a los requerimientos de minerales de la tilapia hay poca información. Como otros organismos acuáticos, las tilapias son capaces de absorber minerales como Ca, Mg, Na, K, Fe, Zn, Cu y Se del agua de cultivo (Torres *et al.*, 2012); sin embargo, a pesar de la capacidad para absorber minerales del agua de cultivo y la presencia de minerales en la dieta, los piensos de tilapia deben contener premezclas de minerales suplementarios, esto es para asegurar que los niveles sean suficientes para prevenir las deficiencias causadas por la reducida biodisponibilidad (Santosh, 2002).

Los minerales son utilizados en los procesos vitales de la tilapia, como formación de estructura ósea, regulación del equilibrio ácido-base, osmoregulación interna, como componentes de hormonas y enzimas, activación de enzimas, regulación de la captación, almacenamiento y excreción de varios elementos orgánicos, permitiendo un equilibrio dinámico entre el pez y el medio acuático (Torres *et al.*, 2012). En la Tabla 8, se observan los requerimientos de Ca, P y Mg, además otros microminerales indispensables para tilapia.

Tabla 8. Requerimientos de macrominerales y microminerales para tilapia.

Macrominerales	%	Microminerales	mg/Kg
Fósforo	1.10-0.46	Zinc	79.51
Calcio	0.5-0.4	Cobre	3.40-4.00
Magnesio	0.04	Manganeso	12.00

Tomada de Torres *et al.* (2012).

De acuerdo a lo anterior, es necesario el estudio de nuevos ingredientes no convencionales debido al reciente desabasto de harina de pescado en el mercado, que puedan solventar toda la cadena productiva de tilapia y que además cubran los requerimientos nutricionales del pez, ya que en su producción el alimento representa casi el 60 % de los costos totales (Méndez-Martínez *et al.*, 2018; Gutiérrez *et al.*, 2017).

3.4. Semilla de alpiste

El alpiste es una planta perteneciente a la familia de las *Poaceas* originaria del Mediterráneo (Tabla 9), cuyas prácticas de producción y ciclo de cultivo son similares a los de trigo y la cebada (Cogliatti, 2012; Ferrarotto y Da Silva, 2013).

Tabla 9. Orden taxonómico de la semilla de alpiste.

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophytas</i>
Clase	<i>Liliopsita</i>
Orden	<i>Poales</i>
Familia	<i>Poaceas</i>
Género	<i>Phalaris</i>
Especie	<i>Phalaris canariensis</i>

Tomada de Cogliatti (2012).

3.4.1. Producción mundial de alpiste.

El alpiste es cultivado comercialmente en varias partes del mundo, siendo Canadá el principal productor (alrededor de 80 %), con una producción aproximada de 1569 kg por ha/año, seguido por algunas zonas de Asia, Europa y África del Norte (Mason *et al.*, 2018; Salah *et al.*, 2017; CDCS, 2017).

En México se encuentra principalmente en los estados de Sinaloa, Durango, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Baja California Norte, Chiapas, Ciudad de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Yucatán, sin embargo en el año 2015 a México se le consideró el país con mayor importación de alpiste a nivel mundial con un registro de compras de 37,083 ton/año (FAO, 2016), lo cual lo convierte en un país con una alta disponibilidad de este producto.

3.4.2. Descripción de la planta de alpiste.

El alpiste es una planta de alrededor de 60 a 100 cm de altura, posee vainas libres de pelo, hojas de alrededor de 20 a 40 mm de largo y panículas de forma ovalada donde se conserva la semilla, la cual posee una capa de salvado cubierta de espículas de sílice rodeando al endospermo y al

germen, por otro lado el endospermo almidonoso constituye cerca del 70 % del grano y está compuesto por gránulos de almidón cubiertos en una matriz proteica como se muestra en la Figura 7 (Cogliatti, 2012; Abdel-Aal *et al.*, 2011; CDCS, 2011; Abdel-Aal *et al.*, 1997).



Figura 7. Descripción de la planta de alpiste; A) panícula, B) espiquilla C) grano. Tomada de Cogliatti (2012).

3.4.3. Composición química proximal del alpiste.

Dentro de la composición química proximal del alpiste se encuentra que es una semilla con alto valor nutrimental en comparación con otros granos, por lo cual tiene potencial para utilizarse como ingrediente en dietas para tilapia, de acuerdo a lo presentado en la Tabla 10. De acuerdo a la Tabla 10 encontramos que el alpiste es un grano alto en proteína (17-23 %) comparado con el trigo (13 %), también al igual que otros cereales presenta 4 grupos de proteínas como las glutelinas, prolaminas, globulinas y albúminas (Mason *et al.*, 2018), siendo las fracciones de prolamina y glutelina (proteínas de almacenamiento) las más abundantes (Abdel-Aal *et al.*, 2010; Abdel-Aal *et al.*, 1997).

Tabla 10. Composición química proximal de *Phalaris canariensis*.

PB (%)	EE (%)	FC (%)	ELN (%)	CZ (%)	Fuente de consulta
17.6	6.1	2.7	70.7	2.7	INIAP, 2016.
18.2	5.3	NR	50.5	5.3	Machado, 2015.
23.7	7.9	7.3	55.8	2.3	Abdel-Aal <i>et al.</i> , 2011.
21.6	5.5	NR	60.9	2.1	CDCS, 2011.
20.3	8.3	6.6	50	2	Abdel-Aal <i>et al.</i> , 2010.
18.3	7.4	NR	58	NR	Bertoni <i>et al.</i> , 1997.
15.8	6.5	2.2	61.6	5.7	En este estudio

PB (proteína bruta), EE (extracto etéreo), FC (fibra cruda), ELN (extracto libre de nitrógeno), CZ (cenizas). NR= No reportado en las bases consultadas.

Es una semilla rica en aminoácidos esenciales de acuerdo a los requerimientos de la tilapia del Nilo como se muestra en la Tabla 11, donde se observan grandes cantidades de arginina, fenilalanina y leucina en comparación con la pasta de soya (insumo vegetal más usado en acuicultura) y alta en triptófano e isoleucina comparada con el trigo (Mason *et al.*, 2018; Abdel-Aal *et al.*, 1997).

Tabla 11. Perfil de aminoácidos esenciales de los ingredientes semilla de alpiste, pasta de soya y harina trigo comparados con el requerimiento de crecimiento en la tilapia nilótica.

Aminoácido	Semilla de Alpiste (%)		Pasta de soya (%)	Trigo (%)	Requerimiento de aminoácidos de tilapia nilótica (%)
Lisina	2.6	1.3	5.7	1.9	2.2
Metionina	1.9	1.4	5.5	1.4	0.7
Treonina	2.7	2.7	3.6	2.8	1.7
Arginina	6.4	NR	NR	5.1	1.8
Fenilalanina	6.5	6.7	4.6	5.4	2.3
Histidina	1.6	1.8	2.3	2.1	0.7
Isoleucina	3.9	3.5	4.2	2.8	1.3
Leucina	7.6	7.0	6.9	5.3	1.4
Triptófano	2.8	2.8	NR	1.2	0.4
Valina	NR	4.6	4.7	3.8	1.2
Fuente de consulta	Gutiérrez <i>et al.</i> , 2017; CDCS, 2011.			Mason <i>et al.</i> , 2018	Furuya, 2010; NRC, 1993.

NR= No reportado en las bases consultadas.

El contenido de lípidos es bajo comparado con su contenido de proteína y carbohidratos, sin embargo en el perfil de ácidos grasos abundan los monoinsaturados y poliinsaturados como se muestra en la Tabla 12 (CDCS, 2017; Salah *et al.*, 2017).

Tabla 12. Perfil de ácidos grasos de la semilla de alpiste.

Ácido graso	Contenido (%)
Ácido Linoleico (C18:2)	53.3-52
Ácido Oleico (C18:1)	31-29
Ácido Palmítico (C16)	11.3
Ácido Esteárico (C18)	1.4-1.2
Ácido Linoleico (C18:3)	2.4

En relación al contenido de minerales, la Comisión del Desarrollo del Alpiste de Saskatchewan en Canadá (2017) y Abdel-Aal *et al.* (2011) concluyeron que la semilla de alpiste tiene mayor concentración de fósforo, magnesio, manganeso, hierro, zinc, calcio y potasio además vitaminas como niacina, tiamina y riboflavina y piridoxina comparado con otras semillas (Mason *et al.*, 2018; Demirbas, 2005) en los valores presentados en la Tabla 13.

Tabla 13. Valores de vitaminas y minerales de la semilla de alpiste.

Vitaminas	Cantidad mg/100g	Minerales	Cantidad mg/100g
Niacina	1.2	Fósforo	640
Tiamina	0.65	Magnesio	200
Riboflavina	0.09	Manganeso	6.3
Piridoxina	0.16	Hierro	6.5
		Zinc	3.5
		Calcio	40
		Potasio	385

3.4.4. Compuestos fitoquímicos y propiedades funcionales de la semilla de alpiste.

Dentro de sus compuestos fitoquímicos con potencial funcional en semilla de alpiste Li *et al.* (2012), reportaron carotenoides: como luteína y el β -caroteno. Por otro lado, Zhijie *et al.* (2016), Grajeda *et al.* (2012) y Takagi y Lida (1980) encontraron compuestos antioxidantes como ácido ferúlico, cafeico, sinápico, lignanos, esteroides y algunos triterpenos, lo que la hace una planta

de gran interés para la industria farmacéutica y funcional ya que por ejemplo al ácido ferúlico se le han atribuido beneficios para la salud entre las que destacan su poder antiinflamatorio, como agente antidiabético, antioxidante y como neuroprotector (Mason *et al.*, 2018; Srinivasan *et al.*, 2007). En otro estudio realizado por Salah *et al.* (2017), encontraron la presencia de esteroides como β -sitosterol (480 mg/g), campesterol (240 mg/g) y el α -colestanol (130 mg/g). Por su parte Villarreal (2011), reportó un contenido de esteroides de 3 % aproximadamente siendo ergosterol el más predominante. En ese mismo año la Comisión del Desarrollo del Alpiste de Saskatchewan (Canadá) realizó un estudio similar y reportó una concentración de 181 mg/g de campesterol, de 17 mg/g de stigmasterol y 326 mg/g de β -sitosterol en el grano de alpiste desnudo. Sin embargo, el valor biológico de esta semilla se ve subestimado ya que se considera un producto destinado exclusivamente al consumo animal, debido a la presencia de fibras de sílice alrededor de su semilla por lo cual no se le consideraba apta para consumo humano, ya que el sílice es un compuesto que causa irritación y se le asocia con el desarrollo de cáncer de esófago (Mason *et al.*, 2018; Hucl, 2001; Bhatt *et al.*, 1984), por lo cual la Comisión del Desarrollo del Alpiste de Saskatchewan (2017), desarrollo nuevas variedades libres de fibras de sílice (CDC Maria, CDC Togo, CDC Bastia y CDC Calvi), lo cual permitió mediante este procedimiento de selección que estas nuevas variedades sean más adecuadas para consumo humano en términos de su composición, aunando a esto fueron desarrolladas nuevas variedades de un color amarillo con el fin de que fueran más atractivas para el consumidor (Matus-Cádiz *et al.*, 2003) (Figura 8).



Figura 8. Semillas de *Phalaris canariensis* de las variedades a) C09052 (amarillo) y b) CDC Calvi (café) (CDCS, 2017). Imagen tomada de Mason *et al.* (2018).

En los últimos años la leche de esta semilla se ha usado para tratar problemas relacionados con altos niveles de colesterol y glucosa en sangre ya que diversos estudios le atribuyen propiedades hipocolesterolémicas e hipoglucoémicas por ser una buena fuente de fitoesteroles y péptidos bioactivos (Mason *et al.*, 2018; Salah *et al.*, 2017; Grajeda *et al.*, 2012). Existen diversos estudios que demuestran los diferentes beneficios del alpiste para la salud; por ejemplo, Anaya (2017) encontró un efecto hipolipemiante de un extracto acuoso de piña mezclado con alpiste, avena y linaza en pacientes con niveles altos de colesterol y triglicéridos. Por su parte Estrada y colaboradores (2014) demostraron que el alpiste contiene proteínas capaces de reducir la hipertensión. Un estudio realizado por Pezo en 2011 con ratas (*Rattus norvegicus*) puso en evidencia el efecto hipocolesterolémico de una bebida preparada a partir de esta semilla en dosis de 1.64 mL por día. Por otro lado, Cuellar y Porcel (2010) realizaron un estudio de tres semanas con personas, los cuales tenían diferentes niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, encontrando que mediante el suministro de un licuado a base de alpiste los niveles de colesterol y triglicéridos bajaron entre un 50 % y 100 %, respectivamente.

En la medicina tradicional se le atribuye al alpiste beneficios para la salud como relajante y desinflamante natural, en problemas como la cistitis (inflamación de la vejiga urinaria), hiperazotemia (concentración de productos nitrogenados en urea) y la migraña (dolor fuerte de cabeza); por otro lado su alto contenido en lipasas provoca un efecto directo sobre lípidos y triglicéridos del organismo y la fibra que posee ayuda a reducir la absorción del colesterol (Benítez, 2010), por lo cual su aplicación sobre la salud humana va en aumento ya que además presenta propiedades curativas en padecimientos como reumatismo, gota, gastritis y úlceras gástricas (Kazi *et al.*, 2018). Asimismo, en estudios más recientes se le han atribuido propiedades antimicrobianas como inhibidor para *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (Kazi *et al.*, 2018).

3.4.5. Semilla de alpiste en nutrición animal.

El alpiste es la única especie de su género cultivada para la producción de granos, los que se destinan casi exclusivamente a la alimentación de aves canoras u ornamentales enjauladas (Miravalles *et al.*, 2002). Sin embargo, posee características similares a las del trigo por lo cual

se cree podría reemplazarlo (Hucl *et al.*, 2001, Hucl *et al.*, 2000), lo que ha incitado el estudio de esta en otras especies animales como se describen en la Tabla 14, en donde no se han encontrado efectos negativos al incluirla en la dieta, posiblemente debido a que posee un bajo contenido de factores antinutricionales comparado con lo encontrado en otras semillas de cereales, ya que solo existen reportes en cuanto a la presencia de fitatos (5.8 mg/g), inhibidores de amilasa (2.26 mg/g) e inhibidores de tripsina (0.36 mg/g) (Abdel-Aal *et al.*, 2011) dentro de los estudios reportados en la literatura.

Tabla 14. La semilla de alpiste en nutrición animal.

Especie	Resultados encontrados	Fuente de consulta
Cerdas de la raza Landrace (47 kg).	Mejor rendimiento productivo y mejor calidad de la carne	De la Cruz, 2017.
Larvas de pez cebra (5 días de edad).	Actividad antioxidante del 20.5% mayor al de un estudio <i>in vitro</i> .	Rodríguez, 2016.
Ratas albinas Holtzman (260 ± 10 g de peso).	Disminución colesterol y triglicéridos séricos	Rodríguez y del Águila, 2015.
Pollos de engorda (0 a 35 días de edad)	Mejores tasas de crecimiento y mayor ganancias de peso	Classen <i>et al.</i> , 2014.
Ratones de laboratorio (machos CD1 de 20 a 25 g).	Reducciones en: estrés oxidativo, niveles de glucosa en sangre, colesterol sérico, triglicéridos y aumento del colesterol HDL e insulina sérica en ratones diabéticos.	Pérez <i>et al.</i> , 2014.
Pollos de engorda (0 a 35 días de edad)	Ganancia de peso y alimento consumido similares comparados con dietas a base de trigo.	Newkirk <i>et al.</i> , 2011.
Rata común inducida con hipercolesterolemia	Efecto hipocolesterolémico de una bebida de alpiste saborizada con jugo de maracuyá	Pezo, 2011.
Cerdos (34.4 ± 2.8 kg)	Aumentos en la tasa de crecimiento	Thacker, 2003.

3.5. Fitoesteroles

En la actualidad, una parte de las nuevas investigaciones realizadas en peces de agua dulce tiene un enfoque funcional sobre la industria alimentaria, ya que estas se centran en atender posibles alternativas para atender el problema de las enfermedades emergentes de la sociedad como es el caso del colesterol alto registrado en diferentes países del mundo y que ha afectado a 24 millones de personas aproximadamente según datos de la Organización Mundial de la Salud en 2014 (Rodríguez *et al.*, 2017). Estas investigaciones se están realizando con el fin de optimizar la composición de grasa de la dieta, modificando el contenido de los ácidos mono y

polinsaturados y más recientemente promoviendo el uso de nuevos ingredientes no convencionales con propiedades funcionales como es el caso de los fitoesteroles (Silveira, 2003). Los fitoesteroles son esteroides vegetales, es decir moléculas esteroideas similares al colesterol, actúan como importantes componentes estructurales de las membranas vegetales, estabilizando las bicapas lipídicas al igual que lo hace el colesterol en las membranas de células animales (Valenzuela, 2004). Son moléculas pertenecientes a la familia de los triterpenos, dentro de su estructura presentan un grupo metilo en el carbono 24 y un doble enlace en el carbono 5 (Palou *et al.*, 2005). Se han reportado más de 200 tipos de fitoesteroles, siendo los más abundantes y estudiados campesterol, stigmasterol y β -sitosterol (Figura 9) (Patel, 2006; Plaza, 2001). Este tipo de biomoléculas se pueden presentar en la naturaleza en forma libre y también pueden estar unidos con ácidos grasos, ferulato o ácido ferúlico o con azúcares como se muestra en la Figura 10 (Palou *et al.*, 2005).

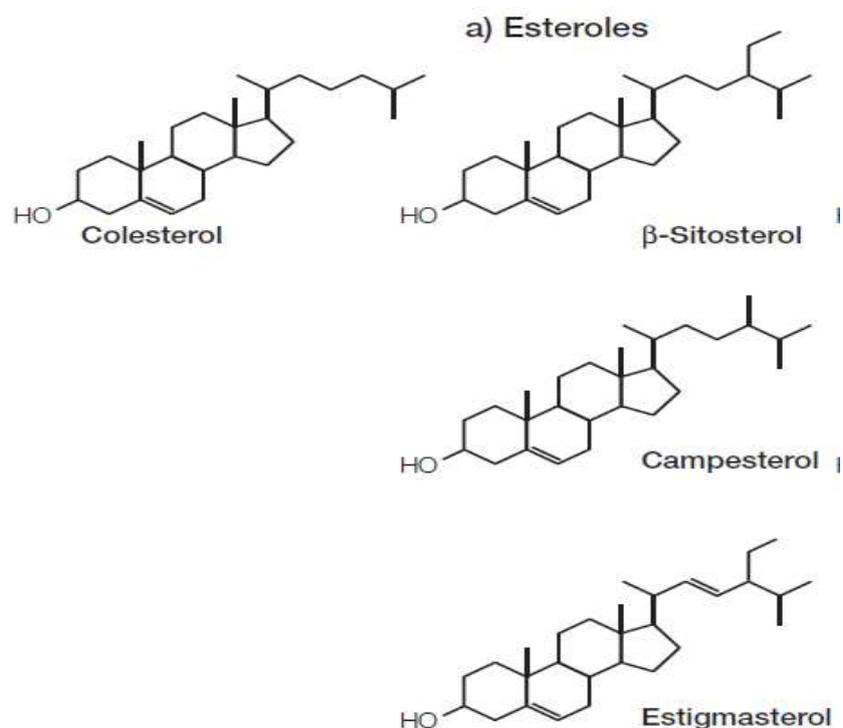


Figura 9. Estructura del colesterol y de los principales esteroides vegetales. Tomada de Palou *et al.* (2005).

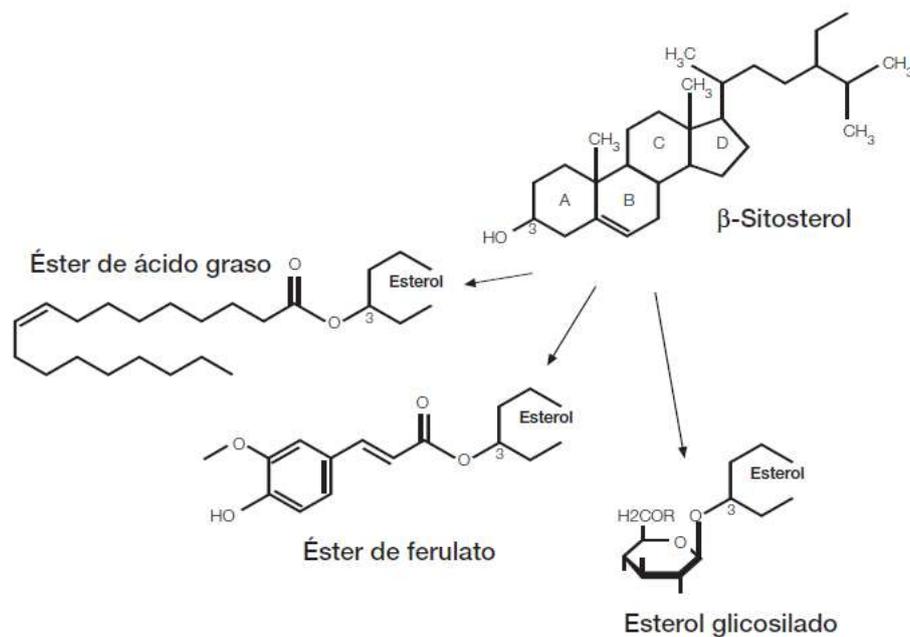


Figura 10. Estructuras de esteroides conjugados. Tomada de Palou *et al.* (2005).

En los últimos años se han descrito diversos efectos fisiológicos de estos compuestos que incluyen propiedades antiinflamatorias, antitumorales, bactericidas y fungicidas, sin embargo, el efecto mejor caracterizado científicamente es la acción hipocolesterolemizante, contribuyendo a disminuir tanto el colesterol total como el colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (Katan *et al.*, 2003), funcionalidad que ha sido demostrada en humanos y en distintas especies animales, tal como se muestra en la Tabla 15.

Actualmente la investigación sobre el efecto de fitoesteroides en peces es escasa, salvo lo reportado por Ferreira *et al.* (2011) con tilapia nilótica, quienes encontraron que aquellos organismos alimentados con harinas de origen vegetal presentaron niveles más bajos de colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL en comparación con los tratamientos con harina de pescado. Estudios posteriores realizados por Liland *et al.* (2013) con salmón del Atlántico, evidenciaron que al reemplazar la harina de pescado por proteína vegetal en niveles del 40 % y 80 %, y el aceite de pescado en niveles del 35 % y 70 % con aceites vegetales, encontraron que no hubo efecto en la reducción de colesterol de dichos peces. Sin embargo, en un estudio más reciente Sissener *et al.* (2018) evaluaron el efecto de diferentes temperaturas de cultivo en la retención del colesterol y los fitoesteroides suministrados en la dieta de salmón del

Atlántico, encontrando que los fitoesteroles con mayor absorción intestinal y más acumulación en músculo fueron campesterol y brasicasterol.

Tabla 15. Efecto hipocolesterolémico de dietas con diferente concentración de fitoesteroles.

Fuente de esteroles	Nivel de inclusión	Efecto	Modelo de estudio	Fuente de consulta
Combinación de algas (<i>Isochrysis</i> , <i>Pavlova</i> , <i>Tetraselmis</i> y <i>Thalassiorisa</i>)	1.5 %	Reducción de colesterol total	Mejillones	Hailat <i>et al.</i> , 2016.
Sitoesterol	0.5 %	Reducción de colesterol total en hígado	Cerdos de Guinea (<i>Dunkin hartley</i>)	Jahreis <i>et al.</i> , 2013.
Esteroles presentes en el alga <i>Macrocystis pyrifera</i> (fucosterol, desmosterol, estigmasterol, ergosterol y β -sitosterol)	4 %, 6 % y 8 % del alga	Reducción de colesterol en huevo	Gallina Leghorn (<i>Gallus gallus domesticus</i>).	Carrillo <i>et al.</i> , 2012.
Mezcla de esteroles	0.8 %	Reducción de colesterol LDL	Humanos	Pezo, 2011.
Esteroles presentes en el alga <i>M. pyrifera</i>	4 %	Acción hipocolesterolémica	Camarón café (<i>Farfantepenaeus californiensis</i>)	Casas-Valdez <i>et al.</i> , 2006.
Margarinas adicionadas con esteroides de fitoesteroles	2 g/día	Reducción de colesterol total, y colesterol LDL	Humanos	Lottenberg <i>et al.</i> , 2002.
β -sitosterol	1 %	Reducción de un 48 % de colesterol a nivel intestinal	Conejos machos New Zealand	Field y Mathur, 1983.

3.5.1. Fitoesteroles y su actividad hipocolesterolémica.

El efecto hipocolesterolémico de los fitoesteroles ha sido demostrado en niños, adultos y ancianos con o sin antecedentes de colesterolemia o enfermedades cardiovasculares de acuerdo a varios estudios realizados (Piepoli *et al.*, 2016; Katan *et al.*, 2003). Ya que estructuralmente son muy parecidos al colesterol, provocan que a nivel intestinal ejerzan una competencia con el colesterol por la solubilización en las micelas mixtas, por otro lado, disminuyen la esterificación del colesterol en las células intestinales por la inhibición de la enzima acil-CoA: colesterol aciltransferasa (ACAT), evitando así su incorporación junto con los triglicéridos provenientes de la dieta a los quilomicrones; además, el colesterol que no llega a ser esterificado, es nuevamente enviado al intestino para ser conducido por transportadores ABC,

como se aprecia en la Figura 11 (Muñoz *et al.*, 2011; Ros, 2006; Palou, 2005; Valenzuela, 2004).

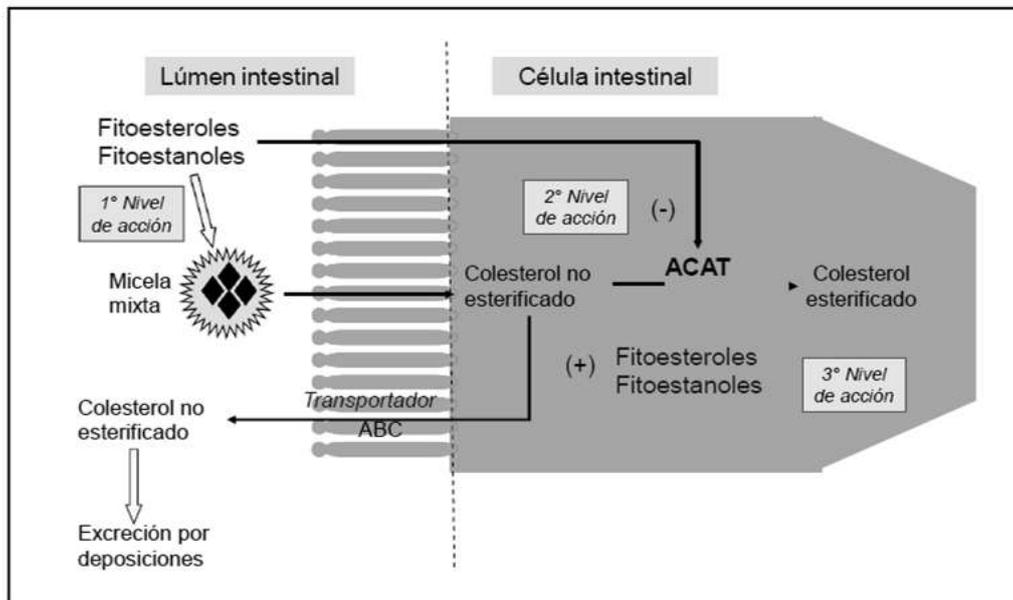


Figura 11. Mecanismos de acción del efecto hipocolesterolémico de los fitoesteroides en el organismo. Tomada de Muñoz *et al.* (2011).

Existe un gran número de evidencias que han demostrado un importante efecto de los fitoesteroides sobre la reducción de los niveles de colesterol total, colesterol LDL (8-14 %) y triglicéridos (4-11 %) tanto en estudios *in vivo* e *in vitro* (Piepoli *et al.*, 2016; Moghadasian, 2000; Pollak, 1953). De acuerdo a dichos efectos, una reducción del colesterol a nivel intestinal provoca un incremento en su síntesis endógena, la cual no llega a compensar los niveles de colesterol sanguíneo, por lo cual existe una reducción del colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (Piepoli *et al.*, 2016; Plat y Mensink, 2002; Gylling, 1999, Gylling, 1994), sin verse afectados los niveles del colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad. Diversos estudios realizados en humanos resaltan que para que esta funcionalidad se logre es necesaria la ingesta de hasta 2.6 g/día de fitoesteroides en la dieta por día del total de alimentos consumidos, sin importar la fuente de la cual provengan (Piepoli *et al.*, 2016; Pezo, 2011; Rocha *et al.*, 2011; Escuriol *et al.*, 2009; Katan, *et al.*, 2003; Homma, *et al.*, 2003; Lottenberg *et al.*, 2002; Miettinen *et al.*, 1995; Vanhanen *et al.*, 1994), lo cual se traduce en un nivel de respuesta positivo para el organismo en términos del aprovechamiento del colesterol proveniente de la misma dieta ingerida, y además esto ha permitido determinar que dosis superiores a 3000

mg/día de fitosteroles bloquean el nivel de respuesta respecto a funcionalidad de los esteroides (Muñoz *et al.*, 2011).

3.5.2. Fuentes de fitosteroides.

Las principales fuentes de estas biomoléculas son los aceites vegetales, semillas oleaginosas, cereales, legumbres y frutos secos. Prácticamente todos los alimentos vegetales contienen cantidades apreciables de fitosteroides como se puede observar en la Tabla 16 de acuerdo a lo reportado por Silva y colaboradores (2016), por lo cual, su ingesta diaria varía de 160 a 500 mg/día de acuerdo a los hábitos alimenticios de las poblaciones (Valenzuela, 2004).

Tabla 16. Fuentes más comunes de esteroides vegetales.

Fuente	Esteroides vegetales (mg/100g porción comestible)
Aceite de maíz	952
Aceite de girasol	725
Aceite de semilla de soja	340
Aceite de oliva	176
Almendras	143
Cacahuates	220
Nuez	108
Alubias	76
Maíz	178
Trigo	69
Aceite de palma	49
Lechuga	38
Plátano	16
Fresa	16
Manzana	12
Tomate	7
Coles	24
Cebolla	15

En las especies vegetales existe una gran variabilidad en el contenido de fitosteroides (Lattanzio, 2006). En frutas y verduras su contenido es bajo encontrándose valores de 2 mg/100 g en sandías y hasta 24 mg/100 g en naranjas, mientras que en las verduras los valores fluctúan

entre 3 mg/100 g en berenjenas hasta 54 mg/100 g en chicharos. En semillas de cereales como el centeno, trigo, cebada y avena el contenido es de 100 mg/100 g, 76 mg/100 g, 83 mg/100 g y 52 mg/100 g, respectivamente (Piironen *et al.*, 2000). En otro trabajo con centeno, cebada y maíz se encontraron valores más altos en centeno 76 mg/100 g, y los más bajos en maíz con 44 mg/100 g (Ryan *et al.*, 2007). En arroz se han encontrado valores cercanos a 80 mg/100 g (Zangerberg *et al.*, 2004) y en sorgo de 48 mg/100 g (Singh *et al.*, 2003). El mayor consumo del trigo se hace como harina refinada, la cual corresponde a solo la sección del endospermo de la semilla cuyo contenido en fitoesteroles es de 36 mg/100 g, valor muy inferior al encontrado en harina de trigo integral de 71 mg/100 g (Ogrodowska *et al.*, 2014).

4. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación estudia el uso de la semilla de alpiste desde un punto de vista nutricional y funcional como un ingrediente no convencional con potencial de utilizarse en dietas para tilapia, ya que no se han encontrado investigaciones enfocadas a evaluar a la semilla de alpiste en dietas para peces sobre todo en tilapia nilótica. Este hecho es relevante dado el creciente aumento de la producción acuícola a nivel mundial en un valor aditivo anual estimado de 8 % de acuerdo a reportes actuales de 2018 y en las proyecciones del 2030 del sector tilapia, debido a esto es necesario la búsqueda de nuevos ingredientes de amplia disponibilidad de todo el año que ofrezcan una buena nutrición a los organismos en cultivo disminuyendo en algunos casos el costo de producción y fomentando la generación de valor agregado a la cadena productiva de tilapia. Considerando que nuestro país tiene una ubicación geográfica muy buena con respecto a Estados Unidos y que son un gran consumidor de tilapia principalmente en filetes frescos, existe una gran inquietud por parte los Gobiernos Estatal y Federal de mejorar toda la cadena productiva de tilapia y generar un mayor valor agregado en el Sistema Producto Nacional Tilapia en México, como lo que se realiza en el mercado Europeo para fomentar el valor económico del producto y el consumo a través de productos diferenciados (Arosamena, 2009).

5. HIPÓTESIS

La semilla de alpiste a bajos niveles de inclusión en la dieta no afectarán el crecimiento de tilapia nilótica, además disminuirán la concentración de triglicéridos y colesterol en sangre y el filete.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de alpiste en alimentos para tilapia sobre el crecimiento y en la utilización del alimento mediante un bioensayo de crecimiento en condiciones controladas.

6.2. Objetivos particulares

- 1) Evaluar el efecto de los diferentes niveles de inclusión de alpiste sobre la calidad del alimento mediante análisis de hidroestabilidad, composición nutricional, perfil de esteroides y contenido energético.
- 2) Evaluar el efecto de la inclusión del alpiste sobre los parámetros zootécnicos productivos mediante un bioensayo de crecimiento con tilapia nilótica.
- 3) Evaluar el efecto de la inclusión del alpiste sobre el contenido de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos de la tilapia en la etapa de crecimiento.
- 4) Evaluar el efecto de la inclusión del alpiste como promotor de la calidad sensorial del filete de tilapia.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Proceso de elaboración de las dietas experimentales.

Un lote de ingredientes formado por semilla de alpiste, pasta de soya, harina de trigo (Semillas Socorro, Tepic, Nayarit, México), harina de calamar (Proteínas Marinas y Agropecuarias S.A. de C.V. Guadalajara, Jalisco, México), carragenina (presentación en polvo DGari Procesa Alimentos S.A. de C.V. Querétaro, México), premezcla de vitaminas y minerales (presentación en polvo VITAFORTE-A® PARFARM, S.A. México, D.F.), tocoferol (cápsulas de vitamina E, Bayer de México S.A. de C.V.), almidón de maíz (Maizena® UNILEVER México, Tultitlán, Estado de México, México) y aceite de cártamo (aceite comercial de Cártamo Aceites Grasas y Derivados S.A. de C.V. Zapopan, Jalisco, México) fueron obtenidos con distribuidores locales de Tepic, Nayarit. Posteriormente todos los ingredientes sólidos fueron molidos en un molino PULVEX Modelo 200 (Molinos PULVEX S.A. de C.V., México) y tamizados hasta obtener harinas de 500 micras (Figura 12 a), con las cuales se formularon las dietas experimentales con el software Nutrion a un nivel de 35 % de proteína y 8 % de lípidos, de acuerdo a los requerimientos de crecimiento de *Oreochromis niloticus* (Furuya, 2010; NRC, 1993).

Se formularon y elaboraron cuatro dietas isoproteicas e isolípidicas: una dieta control, y tres dietas con diferentes niveles de inclusión de semilla entera molida de alpiste al 10 %, 20 % y 30 % (designadas como DHA10, DHA20 y DHA30) siguiendo el método descrito por Gutiérrez-Leyva *et al.* (2006) para obtener pellets extruidos de 2 mm de grosor (Figura 12 b y c), posteriormente las dietas fueron secadas a 60 °C en una estufa de convección de aire durante 12 h para mantener un nivel de humedad del 8 %.



Figura 12. Proceso de elaboración de las dietas: a) tamizado post-molienda de ingredientes secos, b) proceso de extrusión con un molino de carne (Tor Rey, México) y c) pellets secos de 2 mm de diámetro.

7.1.1. Análisis químico proximal y de energía del alimento.

Primeramente los ingredientes y posteriormente las dietas elaboradas fueron analizados en su composición química proximal para determinar su contenido de proteína cruda, extracto etéreo (lípidos), humedad, cenizas y fibra cruda de acuerdo a los métodos estandarizados de la A.O.A.C. (2002).

Así mismo se determinó la energía bruta mediante calorimetría utilizando un calorímetro isoperibólico. Todo esto realizado en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal y en el Laboratorio de Análisis Especiales de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UAMVZ) (Figura 13).

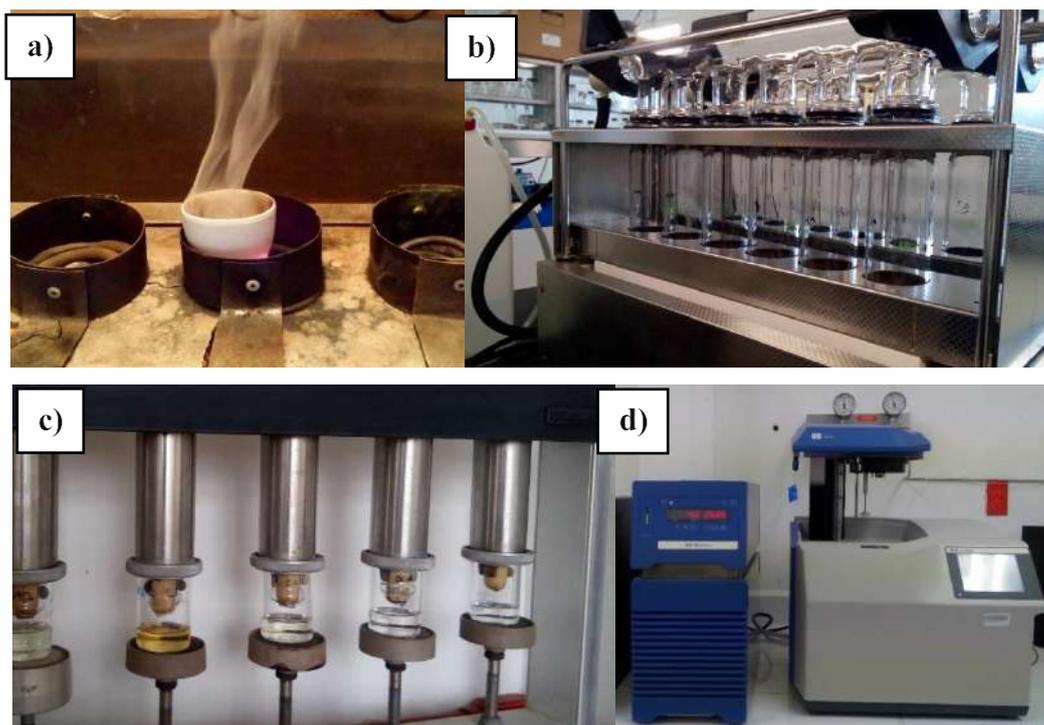


Figura 13. Técnicas utilizadas en el análisis nutricional y de energía de los ingredientes y dietas experimentales: a) determinación de ceniza por calcinación de la muestra, b) determinación de proteína por método Kjendahl, C) determinación de extracto etéreo por método Goldfish y d) determinación de energía bruta por calorímetro.

7.2. Pruebas de hidroestabilidad de las dietas experimentales.

A las dietas experimentales se les determinó el porcentaje de materia seca retenida según el método de Obaldo *et al.* (2002), para lo cual se pesaron dos gramos de alimento, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con un volumen de 200 mL de agua destilada a temperatura ambiente. Después de 1 h de inmersión, con agitación constante a 100 r.p.m. en un agitador horizontal, el alimento residual se filtró a través de papel filtro Whatman No. 2, y se secó en una estufa con flujo de aire a 105 °C por 12 h (Figura 14). El porcentaje de materia seca retenida en la dieta se calculó como:

$$\%MSR = 100 \frac{\text{peso de materia seca en la dieta} - \text{peso de materia seca en la dieta despues de inmersion}}{\text{peso de la materia seca en la dieta}}$$

Con lo cual se determinó la estabilidad. Estas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Toxicología de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN).



Figura 14. Determinación de estabilidad de las dietas experimentales (modo de agitación de las dietas en agua destilada en agitador horizontal).

7.3. Preparación de muestras para análisis de esteroides en dos etapas.

7.3.1. Extracción y saponificación del extracto graso.

A una muestra de 20 g tanto de la harina integral de alpiste como de las dietas experimentales (por triplicado) se les extrajo la grasa en un equipo Soxhlet por un periodo de 9 h mediante 150 mL de una mezcla de etanol y hexano (relación 1:1) como solventes. Enseguida, el solvente del extracto graso se les evaporó con un rotavapor y los extractos grasos recuperados se aforaron con hexano a 10 mL en matraces volumétricos. De ahí, se tomaron 5 mL y se mezclaron con 20 mL de una solución etanólica de KOH al 6 %, para depositarse en viales de vidrio y calentarse en un baño de agua a 75 °C por 1 h, para su saponificación. Transcurrido ese tiempo los productos resultantes se colocaron en embudos de separación y se les agregaron 40 mL de agua destilada y 30 mL de hexano, agitándolos manualmente durante 1 min, hasta que se presentó la separación de los líquidos inmiscibles. A continuación, se recuperaron las fracciones hexánicas y se procedió a realizar un segundo lavado con 30 mL de hexano a los extractos acuosos. Luego, las dos fracciones de hexano se mezclaron y se lavaron con 50 mL de una solución de KOH 0.25 M, con ayuda de agitación durante 1 min, seguida de un reposo para retirar la parte acuosa y realizar dos

lavados más con 50 mL de agua destilada. Posteriormente, las fracciones hexánicas recuperadas fueron filtradas con NaSO₄ para llevarlas a una evaporación casi total mediante un rotavapor. Finalmente, las muestras fueron recuperadas de nuevo con hexano, aforadas a 10 mL y almacenadas inmediatamente en viales a -20 °C para su posterior análisis. (Rodríguez *et al.*, 2014). Parte de este procedimiento de saponificación realizado en el Laboratorio del Centro de Calidad del Agua de América Latina y el Caribe del ITESM, Monterrey, Nuevo León, se presenta en la Figura 15.



Figura 15. Saponificación del extracto graso de la semilla de alpiste y de las dietas experimentales.

7.3.2. Cuantificación de esteroides.

La cuantificación de los fitoesteroides en las muestras saponificadas se realizó por cromatografía de gases, utilizando estándares internos, sin pasar por etapa de derivatización siguiendo el método propuesto por Rodríguez *et al.* (2014). Para tal efecto se utilizaron como estándares β -sitosterol (> 70 % CAS Number 83-46-5), estigmasterol (~ 95 % CAS Number 83-48-7) y campesterol (~ 65 % CAS Number 474-62-4) de grado cromatográfico 100-200 malla obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Todos los estándares fueron preparados a una concentración base de 1000 ppm en una solución a base de hexano y etanol (relación 1:1). Posteriormente fueron almacenadas a -20 °C para su posterior análisis. El análisis fue realizado

en un Cromatógrafo de Gases 6890N acoplado a un espectrómetro de masas 5973N con una columna capilar HP 5MS:30m*0.25mm*0.25 μ m (Agilent Technologies Alemania) presentado en la Figura 16. Las condiciones del cromatógrafo fueron las siguientes: temperatura de la columna 190 °C durante 1 min, después se alcanzó la temperatura de 320 °C con una rampa de 15 °C, la cual se mantuvo por 24 min. Temperatura del inyector y detector 270 °C y 230 °C respectivamente y como gas acarreador se utilizó helio a un flujo de 1.0 mL/min (Rodríguez *et al.*, 2014).

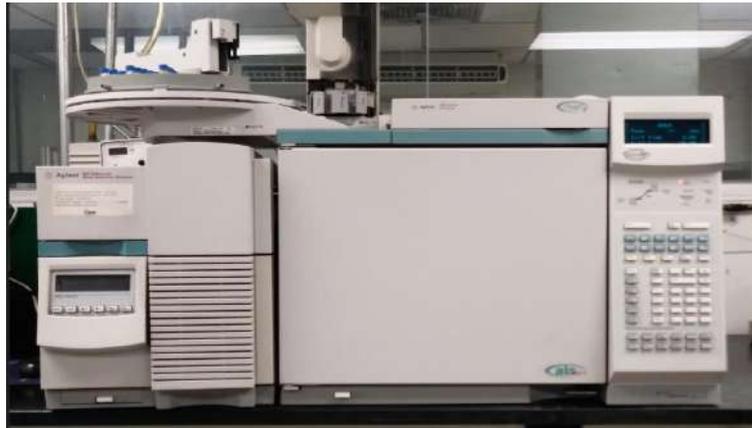


Figura 16. Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies Alemania).

7.4. Bioensayo de crecimiento en condiciones controladas.

Para el bioensayo de crecimiento se utilizaron alevines machos comerciales de *O. niloticus* de la variedad Spring con un peso inicial de 1 g, los cuales se alimentaron con una dieta comercial (Purina México con 40 % de proteína) y aclimataron en tanques de 1200 L hasta alcanzar un peso promedio de 40 ± 2 g. Enseguida fueron ajustadas las condiciones de cultivo experimentales tales como recambio de agua diario, alimentación a saciedad aparente, duración 60 días, temperatura de 25.5 ± 0.5 °C, y 4.5 ± 0.2 mg/L oxígeno disuelto, densidad de cultivo 7 tilapias/tanque y tres réplicas por dieta, todo esto realizado en el Laboratorio de Nutrición Acuícola de la UAVMZ en Compostela, Nayarit (Figura 17). Las biometrías fueron realizadas a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de experimentación bajo los lineamientos de bienestar animal con protocolos recomendados para disminuir estrés de manejo (Deng-Hang *et al.*, 2013). Para cada tratamiento, además de monitorear la supervivencia, se estimaron los parámetros productivos de ganancia de peso, alimento consumido, conversión alimenticia, consumo de proteína y

eficiencia proteica con fórmulas estándares para peces (Figura 18). El alimento aparentemente consumido fue estimado diariamente utilizando una charola alimentadora al interior de los tanques y calculado con el uso de una regla graduada con una escala de cantidades de alimento residual con las especificaciones del Laboratorio de Nutrición Acuícola de la UAMVZ para estimar el alimento residual. Los parámetros de oxígeno disuelto y temperatura fueron medidos diariamente con un medidor multiparámetros portátil. Los niveles de amonio y nitritos fueron medidos semanalmente con kits colorimétricos de la marca NUTRAFIN TEST.

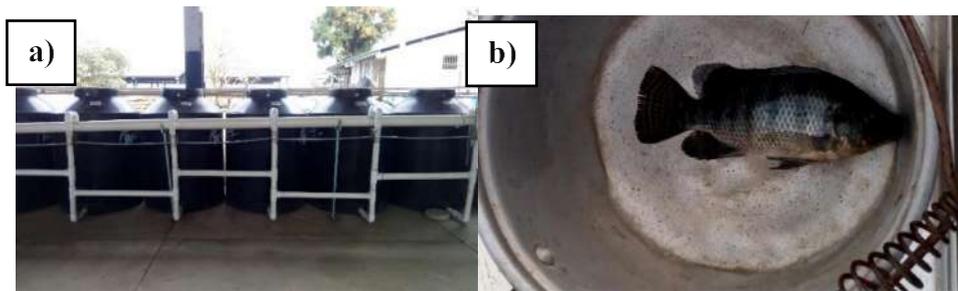


Figura. 17. Sistema experimental de cultivo utilizado en el bioensayo de crecimiento. A) Vista panorámica de tanques de 1200 L, y B) Tilapia nilótica variedad Spring (peso vivo).

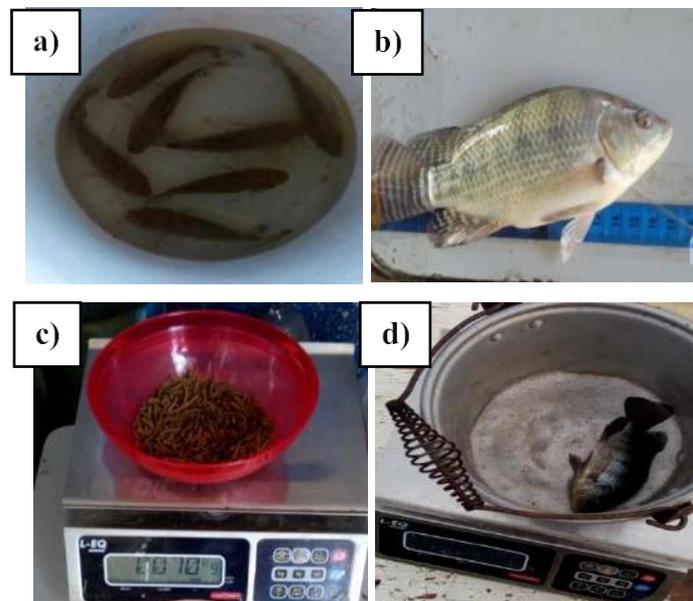


Figura 18. Determinación de parámetros zootécnicos productivos a) supervivencia (peces vivos), b) longitud total, c) alimento consumido y d) ganancia de peso.

7.4.1. Muestreo de sangre y tejidos de tilapia.

Al finalizar el bioensayo de crecimiento después de una restricción de alimento previa de 24 h antes de la biometría se eligieron tres tilapias al azar a las cuales se les extrajo una muestra de sangre directo del corazón con jeringas de 5 mL heparinizadas, la cual fue recolectada en tubos Eppendorf y almacenada a -20 °C para su posterior análisis, a las tilapias restantes de cada tanque se les alimentó y se dejó pasar un tiempo de 3 h post alimentación. Pasado ese tiempo se les extrajo sangre con el procedimiento descrito anteriormente. Finalmente se realizó la disección de los peces para recuperar el hígado y músculos de la región posterior a la cabeza como se muestra en la Figura 19, estos se retiraron eliminando restos de huesos, espinas o piel, los cuales fueron etiquetados y almacenados a -20 °C hasta su análisis (He *et al.*, 2013). Previo al almacenamiento solo el hígado fue tratado para eliminar el exceso de sangre mediante inmersión en solución de cloruro de sodio al 0.9 % (PISA, S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México).

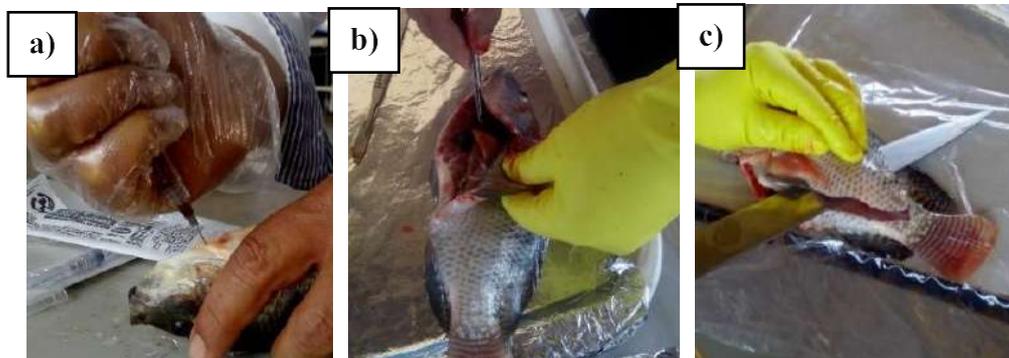


Figura 19. Técnica de extracción de a) sangre, b) hígado y c) músculo de un ejemplar macho de *O. niloticus*.

7.5. Análisis sensorial del filete de tilapia.

Al final del bioensayo de crecimiento los filetes de tilapia de cada tratamiento fueron evaluados respecto a sus atributos sensoriales mediante un estudio con panelistas no entrenados en el cual participaron 24 estudiantes de la UAMVZ de entre 20 y 26 años. Los participantes fueron

distribuidos al azar en un salón de clases para evaluar los tratamientos utilizando una escala hedónica no estructura de 10 cm con etiquetas en los extremos de “no me gusta nada” y “me gusta mucho” además calificaron por separado aspectos sensoriales como sabor, olor, textura y color. Cada panelista recibió 5 g de filete de tilapia cocinada al vapor sin saborizantes o aditivos de cada uno de los tratamientos, los cuales fueron presentados en platos de color blanco codificados con números aleatorios; además los jueces bebieron agua mineral como borrador de sabores entre cada toma de muestra. Las evaluaciones se realizaron bajo luz artificial a temperatura ambiente (Figura 20).

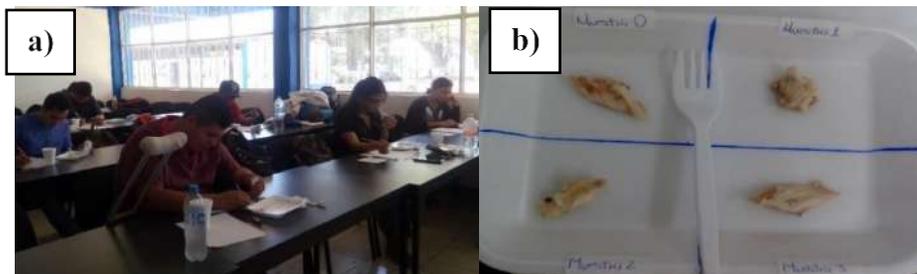


Figura 20. Evaluación sensorial de filete de tilapia a) jueces y b) presentación de filetes de tilapia codificadas al azar.

7.6. Extracción de lípidos para análisis de triglicéridos y colesterol.

Los lípidos de las muestras de hígado y músculo de tilapia liofilizadas se extrajeron siguiendo la metodología propuesta por Galvis *et al.* (2016), para lo cual se utilizaron tubos falcón de 15 mL, en los cuales se colocó de 1 a 2 g de muestra junto con 10 mL de una mezcla de hexano al 95 % y metanol (relación 3:2), posteriormente los tubos se agitaron a 50 r.p.m. durante 24 h en un agitador horizontal a temperatura controlada de 22 °C. Enseguida se les agregó 1 mL de una solución de sulfato de sodio 0.455 mmol/L y se dejaron en agitación durante 24 h a 50 rpm. Posteriormente los tubos se agitaron en vortex durante 10 min y se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. Finalmente se recuperó el sobrenadante (fracción con lípidos) y se pasó a tubos Eppendorf para la evaporación del solvente mediante una estufa con flujo de aire a 60 °C (Figura 21).

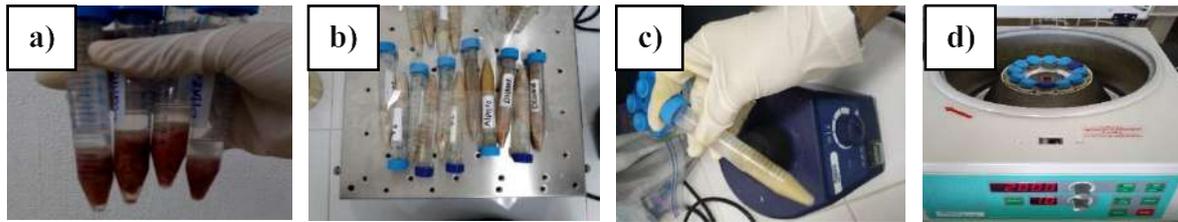


Figura 21. Extracción de lípidos de muestras de hígado y músculo: a) muestras con solventes, b) agitación de muestras, c) agitación en vortex y d) centrifugación.

7.6.1. Análisis de triglicéridos y colesterol.

Muestras del suero sanguíneo de tilapia separado por centrifugación, además el hígado y los tejidos musculares se analizaron por triplicado para determinar su contenido de triglicéridos totales, lipoproteínas de alta densidad, (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), y colesterol total con kits colorimétricos u fluorométricos con alta especificidad de la marca BioSystems (Biosystems, Barcelona, España). Las muestras de suero sanguíneo y los tejidos biológicos de las tilapias se analizaron de acuerdo a las recomendaciones de Cicero *et al.* (2003), utilizando un fotómetro de microplacas de 96 pozos Thermo Scientific Multiskan Go (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA), todo esto fue realizado en las instalaciones de la Unidad de Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Nayarit (Figura 22).



Figura 22. A) Kits comerciales utilizados para la determinación de colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos y B) fotómetro de multiplaca.

7.7. Análisis estadístico.

Los resultados de los parámetros productivos se analizaron en su normalidad y homogeneidad de varianzas con las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk's y Bartlett's respectivamente con los criterios de Sokal y Rohlf (1995). Los resultados del bioensayo de crecimiento, calidad del agua, calidad física de las dietas, el contenido de esteroides y los niveles de colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos se analizaron mediante ANOVA de una vía con un α de 0.05 y al existir diferencia significativa entre tratamientos se utilizó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (Sokal y Rohlf, 1995). Los resultados obtenidos de la prueba sensorial se analizaron por medio de la prueba de U Mann-Whitney con un α de 0.05. Todo esto realizado con el programa Statistica 7.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Calidad del agua del sistema experimental.

En la Tabla 17 se presentan los resultados de calidad del agua del bioensayo de crecimiento, en la cual se puede observar que el pH y el oxígeno disuelto se mantuvieron constantes y no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en las condiciones experimentales utilizadas ($P > 0.05$), los valores obtenidos de estas variables estuvieron dentro del rango óptimo de calidad del agua para el cultivo de tilapia descritos por El-Sayed (2006) y Alcantar *et al.* (2014). Las variables monitoreadas durante 60 días de nitrógeno amoniacal total y nitritos tampoco presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P > 0.05$), esto quizás puede ser atribuido a la baja densidad de siembra por tanque (7 tilapias/m³), a la ausencia de alimento residual, al recambio diario del agua del sistema en un 90 %, y al control del sistema de aireación permanente mediante el blower que permitió oxigenar durante 24 h el sistema experimental.

Los parámetros de calidad del agua en términos de estos nutrientes del agua están dentro del rango adecuado para el crecimiento de tilapia según lo reportado en la literatura (Chila y Zevallos, 2018; Barreto *et al.*, 2015; Alcantar *et al.*, 2014). Por otro lado, la temperatura del agua se mantuvo sin cambios relevantes respecto al valor promedio con valores similares entre todos los tratamientos debido al sistema de calentamiento del agua mediante calentadores sumergibles de 300 Watts.

Al comparar los resultados obtenidos en calidad del agua con otras investigaciones encontramos que son similares a lo reportado por Al-Thobaiti *et al.* (2018), quienes demostraron que condiciones de temperatura de 22 °C, 5.3 mg/L de oxígeno disuelto y pH de 7.2 a 7.5 no afectan el desarrollo de la tilapia nilótica. La supervivencia de la tilapia bajo las condiciones de este estudio fue del 100 % en todos los tratamientos por lo que se descartan aspectos negativos de enfermedades en los peces, ya que es bien conocido que estos animales se pueden afectar considerablemente por una mala calidad del alimento y de las condiciones de cultivo (Alcantar *et al.*, 2014).

Tabla 17. Parámetros de calidad del agua del sistema de cultivo de tilapia analizados durante 60 días.

Parámetros	CONTROL	DHA10	DHA20	DHA30
pH	7.4 ± 0.0	7.4 ± 0.0	7.4 ± 0.0	7.4 ± 0.0
Nitritos (mg/L)	2.9 ± 0.3	3.0 ± 0.2	2.7 ± 0.1	2.8 ± 0.2
Nitrógeno amoniacal total (mg/L)	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.0
Oxígeno disuelto (mg/L)	4.5 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.5 ± 0.3	4.5 ± 0.1
Temperatura del agua (°C)	24.7 ± 0.5	24.8 ± 0.9	24.7 ± 0.7	25.0 ± 0.7

Promedio ± D.E., n=3. DHA10, DHA20 y DHA30 = Dietas con 10 %, 20 % y 30 % de inclusión de harina integral de semilla de alpiste, respectivamente.

8.2. Alimentos experimentales para el bioensayo de crecimiento.

En la Tabla 18 se presenta la formulación de las dietas elaboradas. En esta se puede observar que al aumentar la inclusión de la harina de alpiste, disminuye la incorporación de otros ingredientes como la harina de trigo, harina de calamar, aceite de cártamo y almidón de maíz, sin afectar la composición proximal del alimento requerido para tilapia en su etapa de crecimiento como se muestra en la Tabla 19 (Torres *et al.*, 2012; Furuya, 2010; NRC, 1993), esto permitió evaluar dietas isoproteicas, isolipídicas e isoenergéticas de acuerdo a los niveles a los cuales se formuló. Lo anterior es de suma importancia ya que al igual que otras especies el primer requerimiento para crecimiento y mantenimiento de la tilapia es la energía (Furuya, 2010; NRC, 1993), seguido por la proteína ya que si estos dos nutrientes no están presentes de manera equilibrada en el alimento, la tilapia empezaría a utilizar a los aminoácidos como fuente de energía y no de crecimiento, por lo cual si comparamos lo encontrado en esta investigación con lo establecido en la literatura encontramos que el porcentaje de proteína y lípidos al cual se formuló el alimento cubrió con los requerimientos nutricionales de la tilapia, permitiendo que la proteína contenida en las dietas experimentales se usara mayoritariamente para el crecimiento de los peces (Hernández y Jiménez, 2013; Furuya, 2010; Ng *et al.*, 2004; NRC, 1993).

Tabla 18. Ingredientes y formulación de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento con juveniles de tilapia nilótica.

Ingredientes (en base húmeda)	Dietas experimentales			
	Control	DHA10	DHA20	DHA30
Harina integral de alpiste	0.00	10.00	20.00	30.00
Harina de trigo	38.37	40.00	31.18	22.13
Harina de calamar	31.33	29.05	28.56	28.10
Pasta de soya	10.00	10.00	10.00	10.00
Almidón de maíz	10.00	1.20	1.00	1.00
Aceite de cártamo	6.29	5.74	5.25	4.76
Carragenina (ligante)	2.00	2.00	2.00	2.00
Premezcla de vitaminas	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezcla de minerales	1.00	1.00	1.00	1.00
Tocoferol (conservador lipídico)	0.01	0.01	1.00	1.00
Total (%)	100	100	100	100

DHA10 %, DHA20 % y DHA30 % = Dietas con 10 %, 20 % y 30 % de inclusión de harina integral de semilla de alpiste, respectivamente.

*ELN (Extracto Libre de Nitrógeno). Calculado por diferencia: $100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$.

ab: Letras diferentes como superíndice en la fila indican diferencia significativa entre tratamientos .

La semilla de alpiste contiene en promedio 20 % de proteína y 6.8 % de lípidos, además 5.5 % de fibra cruda y 2 % de cenizas (Tabla 10) (Bertoni *et al.*, 1997; Abdel-Aal *et al.*, 2010, 2011; Machado, 2015; INIAP, 2016). Los valores obtenidos en el presente estudio para esta semilla fueron menores en el contenido de proteína y fibra, similares en lípidos y mayor en el porcentaje de cenizas comparado con otros estudios (Tabla 10).

En este sentido se puede observar que la concentración de fibra y cenizas totales se ven afectadas por el nivel de inclusión de alpiste, ya que a mayor inclusión de este ingrediente en la dieta existe un mayor aporte de cascarilla a las mismas, aunado esto al igual que otros cereales, el alpiste es rico de este tipo de nutrientes en su capa de endospermo (CDCS, 2017; Latham, 2002).

Tabla 19. Hidroestabilidad, composición química y energética de las dietas utilizadas en el bioensayo de crecimiento con juveniles de tilapia nilótica.

Composición química, energética e hidroestabilidad de dietas experimentales en base seca (Promedio \pm D.E, n=3)				
Proteína bruta (%)	37.6 \pm 0.3	37.1 \pm 0.5	37.0 \pm 0.2	37.3 \pm 0.4
Fibra cruda (%)	1.9 \pm 0.4	2.1 \pm 0.3	2.3 \pm 0.0	2.5 \pm 0.1
Energía bruta (cal/g)	4753 \pm 13.0	4708 \pm 9.0	4779 \pm 7.0	4734 \pm 5.0
Cenizas totales (%)	3.6 \pm 0.1	3.8 \pm 0.0	4.3 \pm 0.0	4.8 \pm 0.0
Extracto libre de nitrógeno (%)	43.4	42.8	42.1	41.6
Extracto etéreo (%)	8.2 \pm 0.0	8.6 \pm 0.1	8.4 \pm 0.0	8.0 \pm 0.0
Hidroestabilidad (%)	85.8 \pm 0.7 ^a	84.9 \pm 0.6 ^{ab}	84.1 \pm 0.0 ^b	84.1 \pm 0.7 ^b

Una visión física superficial de los alimentos experimentales se presenta en la Figura 23. En general todas las dietas desarrolladas durante esta investigación presentaron un contenido de carbohidratos entre 41 % y 43 %, debido al tipo de ingredientes utilizados en la formulación como fueron la harina de trigo, harina de alpiste y almidón de maíz, ingredientes que poseen un alto aporte de estos nutrientes principalmente en forma de almidón (Santiago *et al.*, 2017). Además esos valores se consideran cercanos a lo establecido como requerimiento para peces omnívoros de agua dulce, ya que estos animales en general necesitan entre 30 % y 40 % de carbohidratos para mantener un adecuado aporte de energía en el metabolismo basal y de crecimiento, ya que gran parte de estos pasan a la formación de reservas en forma de glucógeno y grasa visceral (FAO, 2017; Iregui, 2000).

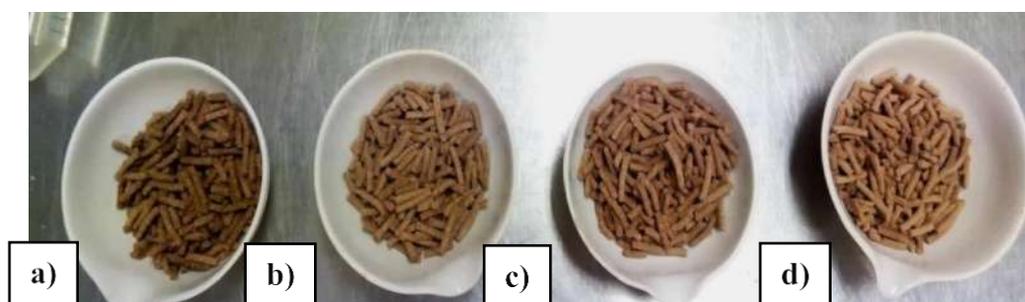


Figura 23. Dietas experimentales a) dieta control, b) DHA10, c) DHA20 y d) DHA30.

En el caso de la energía bruta, las dietas presentaron valores en el rango de 4,708-4,779 cal/g, lo que representa una leve variación entre ellas, debido a la incorporación del alpiste (4,247 cal/g) y al reemplazo de la harina de trigo de una menor densidad calórica (4,111 cal/g). Además, el cambio en los niveles de almidón de maíz en las dietas, también contribuyó a la variación calórica final de las mismas ya que aporta 3,736 cal/g. Por otra parte, los ingredientes de mayor aporte calórico fueron la harina de calamar (4,867 cal/g), la pasta de soya (4,407 cal/g) y el aceite de cártamo (9,293 cal/g); dichas densidades energéticas coinciden con valores reportados en la literatura para tales ingredientes (Santiago *et al.*, 2017; Calvo *et al.*, 2016). Es decir, en la formulación de cada dieta se procuró mantener muy poca variación entre los ingredientes, con el fin de atribuir las respuestas de crecimiento y la utilización del alimento en la tilapia, a la incorporación del alpiste.

Por otra parte, se detectó que la hidroestabilidad del alimento fue afectada por la inclusión de semilla de alpiste en niveles del 20% y 30% ($P < 0.05$), ya que, los valores de retención de materia seca del alimento disminuyeron en 14.2% y 15.9%, respectivamente, en comparación con el tratamiento control después de una hora de inmersión (Tabla 19). Esas diferencias pueden deberse a un mayor contenido de fibra cruda en el alimento, es decir, al mayor aporte de este componente por su presencia en la cascarilla de la semilla de alpiste, puesto que durante el proceso de aglomeración de las partículas de los ingredientes en el proceso de peletizado, no se logró obtener un adecuado nivel de compactación de la masa al agregar el agua y la emulsión de lípidos, lo que probablemente influyó para obtener un alimento más poroso por la presencia de estas fibras vegetales. Al respecto, Campabadal y Cellis (1996) encontraron que conforme aumentaban la mezcla de harinas vegetales en sustitución de harina de pescado en dietas para peces, se disminuía la hidroestabilidad del alimento. Por su parte Sánchez (2012), reportaron pérdidas de materia seca entre 12% y 17% en un estudio con dietas comerciales (Purina, Malta-Cleyton y Api-Aba), en comparación con una dieta experimental extruida, utilizadas en la alimentación del bagre; sin embargo, esas pérdidas por lixiviación no provocaron un efecto negativo en el crecimiento de dicha especie entre los diferentes tratamientos experimentales. Por lo tanto, se podría decir que los resultados de crecimiento de este estudio, presentados a continuación, se pueden atribuir a la calidad nutricional del alimento, sin efecto adverso alguno por el contenido de fibra cruda, cenizas u otros elementos presentes en la semilla de alpiste.

8.3. Parámetros zootécnicos.

Los resultados obtenidos de los parámetros zootécnicos productivos de crecimiento y utilización del alimento del bioensayo de crecimiento se presentan en la Tabla 20. Respecto al tratamiento control podemos dilucidar que no existieron diferencias significativas ($P > 0.05$) comparado con aquellos tratamientos con inclusión de la semilla de alpiste.

Tabla 20. Parámetros zootécnicos de *O. niloticus* determinados al final de 60 días en condiciones controladas de laboratorio.

Dieta	Control	DHA10	DHA20	DHA30
Alimento consumido	6.9 ± 0.0	6.9 ± 0.0	6.9 ± 0.0	6.9 ± 0.0
Proteína consumida	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0
Peso final (g)	196.6 ± 15.2	185.7 ± 25.7	171.3 ± 27.8	175.4 ± 22.2
Peso ganado (g/ tilapia/día)	3.9 ± 0.2	3.7 ± 0.4	3.5 ± 0.4	3.5 ± 0.3
Conversión alimenticia	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.3	1.9 ± 0.2	2.0 ± 0.2
Eficiencia proteica	2.8 ± 0.1	2.6 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.6 ± 0.2

*Valores promedio de tres replicas por tratamiento ± desviación estándar

AC = alimento total consumido/ (número de tilapias) (número de días experimentales).

BG = (peso total acumulado/tilapias) /número de días experimentales.

CA = alimento aparentemente consumido / incremento en peso vivo.

EP = incremento en peso vivo / proteína consumida.

PF= Peso final-peso inicial / días experimentales

PC = (gramos de proteína del alimento en base seca) (alimento consumido) /100

Durante el desarrollo experimental no hubo mortalidad de los peces asociada a la calidad del alimento a pesar de que los niveles de inclusión de la semilla de alpiste fueron altos comparado con los que se han probado en otras especies animales como cerdos y aves de corral (De la Cruz, 2017; Classen *et al.*, 2014; Newkirk *et al.*, 2011; Thacker, 2003). Además, el consumo del alimento fue el mismo para todos los tratamientos lo cual nos indica que la inclusión del alpiste no afectó la palatabilidad del mismo ni el crecimiento, lo cual pudo deberse a que la tilapia es un pez omnívoro con aceptación de todo tipo de alimento por lo que con los consumos registrados se logró mantener la misma tasa de crecimiento en todos los tratamientos, respuestas similares a lo reportado en diferentes trabajos de investigación en los cuales se sustituyó la proteína animal de la dieta por ingredientes de origen vegetal no convencionales para la

alimentación de tilapia (FAO, 2018; Montoya-Camacho *et al.*, 2018; Moya *et al.*, 2018; Alcantar *et al.*, 2014; Moyano, 2006). Por otro lado el consumo de alimento se relaciona con el consumo de proteína, por lo tanto el consumo de proteína fue el mismo para todos los tratamientos.

No hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) en la ganancia diaria de peso, conversión alimenticia ni la eficiencia proteica, esto podría atribuirse al perfil de aminoácidos del alimento y a su bajo perfil antinutricional como se describe en el ANEXO 1 (datos del laboratorio de acuicultura UAMVZ de 2015), por lo cual el alimento con los diferentes niveles de inclusión de semilla de alpiste pudo ser aprovechado eficazmente por la tilapia, además de satisfacer los requerimientos nutricionales del pez, de acuerdo a la base de datos realizada por Furuya (2010) y el NRC (1993).

Por otro lado, los resultados obtenidos de eficiencia proteica fueron similares a los reportado por Al-Thobaiti *et al.* (2018), quienes encontraron valores entre 1.9 y 2.9 y de 2.1 a 3.6 al sustituir la harina de pescado en un 20 y 40 %; respectivamente, con harinas vegetales en dietas para tilapia. Por su parte, Llanes y Toledo (2011) reportaron valores de conversión alimenticia entre 1.7 y 1.8 y eficiencia proteica de 1.9 a 2.0 al incluir 55 % de harina de soya en la dieta para tilapia nilótica. Los resultados de eficiencia proteica reportados por esos autores fueron inferiores a los obtenidos en el presente estudio debido a la inclusión de semilla de alpiste en la dieta (Tabla 20).

8.4. Esteroles de semilla de alpiste y dietas experimentales

En la Tabla 21 se muestra las concentraciones de fitoesteroles presentes en semilla de alpiste, como el β -sitosterol, campesterol y estigmasterol, resultados que coinciden con lo reportado anteriormente por la CDCS de Canadá (2011) en semilla de alpiste, ya que reportan la presencia de 0.047 % de esteroles totales siendo el más predominante el β -sitosterol (42 %), seguido por campesterol (23 %) y estigmasterol (2 %) respectivamente y por lo descubierto recientemente por Salah *et al.* (2017), quienes encontraron 16 tipos de esteroles en semilla de alpiste siendo

los de mayor concentración: el β -sitosterol (48 %), campesterol (24 %), α -colestanol (13 %), fucoesterol (4 %) y estigmasterol (2 %), por lo tanto lo encontrado en esta investigación coincide con los reportes anteriores, haciendo énfasis que el esteroles de mayor presencia en semilla de alpiste es el β -sitosterol seguido por campesterol y estigmasterol respectivamente, además si comparamos esto con lo encontrado en cereales como el trigo, del cual se han reportado de entre 0.036 % y 0.071 % de esteroides totales formados principalmente por β -sitosterol (36 %), campesterol (12 %) y estigmasterol (0.2 %), encontramos que la semilla de alpiste (0.1 %) es un grano más rico en este tipo de compuestos (Ogrodowska *et al.*, 2014).

Tabla 21. Contenido de esteroides (mg/kg) de semilla de alpiste y de dietas experimentales.

Fitoesteroides	Semilla de alpiste	Dietas experimentales			
		Control	DHA10	DHA20	DHA30
β -sitosterol	966.39 \pm 69.83	163.30 \pm 7.26 ^c	653.75 \pm 20.65 ^b	770.97 \pm 27.97 ^b	1138.09 \pm 136.03 ^a
Campesterol	250.92 \pm 5.23	98.25 \pm 3.63 ^c	351.35 \pm 28.66 ^a	169.19 \pm 12.39 ^b	353.24 \pm 18.25 ^a
Estigmasterol	26.12 \pm 1.79	15.31 \pm 3.16 ^c	18.75 \pm 0.71 ^c	34.52 \pm 2.19 ^a	26.54 \pm 1.61 ^b

* Valores promedio de tres replicas por tratamiento \pm desviación estándar.

a,b,c: valores con letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

En cuanto las dietas experimentales existió diferencia significativa para cada uno de los esteroides encontrados ($P < 0.05$). Como se puede observar en la Tabla 20 hubo una concentración mayor de β -sitosterol en función de la inclusión de semilla de alpiste en las dietas, esto debido a que es el esteroles con mayor presencia en esta semilla, caso contrario del campesterol ya que se encontró una concentración menor en la dieta con 20 % del alpiste respecto a los otros tratamientos con inclusión de esta semilla y en el caso del estigmasterol la mayor concentración se encontró nuevamente en la dieta con el 20 % de alpiste, esto pudo atribuirse a la modificación de otros ingredientes de origen vegetal principalmente el trigo y el aceite de cártamo, ingredientes comúnmente fuente de esteroides (Ogrodowska *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2011) para lograr formular en base a los requerimientos nutricionales de 35 % proteína y 8 % lípidos y a la vez incorporar la semilla de alpiste en las dietas experimentales desarrolladas (Tabla 18).

8.5. Niveles de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos en sangre, hígado y filete de tilapia.

En la Tabla 22 se presentan los resultados de los niveles de colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL, además los triglicéridos de hígado, sangre y músculo de tilapia nilótica. Como se puede observar, existió un aumento del HDL en sangre después de haberse ingerido el alimento, lo cual podría dar un indicio sobre el metabolismo lipídico de tilapia, ya que por ejemplo en especies como el conejo, mono y el ser humano existe una tendencia a incrementar los niveles del LDL después de ingerirse alimento, caso contrario para lo reportado en especies como ratas y rumiantes los cuales muestran un aumento del HDL como respuesta al aumento de grasas y colesterol de la dieta (Osorio, 2013; Coppo *et al.*, 2003; Tebot, 2000; Bauer, 1997).

Tabla 22. Resultados de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL de *O. niloticus*.

Muestra biológica	Dieta	Triglicéridos mmol/L	Colesterol Total mmol/L	HDL mmol/L	LDL mmol/L
Hígado	Control	1.69 ± 0.07 _{ab}	2.17 ± 0.62 _{ab}	0.43 ± 0.52 _a	1.64 ± 0.47 _a
	DHA10%	1.72 ± 0.59 _{ab}	1.68 ± 0.16 _{ab}	0.24 ± 0.10 _a	1.33 ± 0.54 _a
	DHA20%	1.49 ± 0.20 _a	2.32 ± 0.15 _b	0.21 ± 0.19 _a	1.66 ± 0.44 _a
	DHA30%	2.31 ± 0.30 _b	1.43 ± 0.40 _a	0.25 ± 0.14 _a	1.30 ± 0.65 _a
Sangre en ayunas	Control	0.99 ± 0.07 _a	0.56 ± 0.08 _a	0.08 ± 0.03 _a	1.02 ± 0.07 _a
	DHA10%	1.00 ± 0.02 _a	0.60 ± 0.09 _a	0.09 ± 0.02 _a	0.91 ± 0.07 _a
	DHA20%	0.96 ± 0.11 _a	0.57 ± 0.06 _a	0.08 ± 0.04 _a	1.10 ± 0.20 _a
	DHA30%	0.96 ± 0.01 _a	0.56 ± 0.09 _a	0.10 ± 0.01 _a	1.04 ± 0.21 _a
Sangre posprandial	Control	1.01 ± 0.07 _a	0.60 ± 0.02 _a	0.34 ± 0.09 _a	1.02 ± 0.03 _a
	DHA10%	0.99 ± 0.09 _a	0.61 ± 0.01 _a	0.30 ± 0.03 _a	0.90 ± 0.12 _a
	DHA20%	1.05 ± 0.08 _a	0.61 ± 0.02 _a	0.34 ± 0.05 _a	1.00 ± 0.16 _a
	DHA30%	1.05 ± 0.08 _a	0.61 ± 0.02 _a	0.32 ± 0.01 _a	0.83 ± 0.20 _a
Filete	Control	2.50 ± 0.60 _a	1.30 ± 0.25 _a	0.21 ± 0.07 _a	0.68 ± 0.16 _a
	DHA10%	2.68 ± 0.28 _a	1.73 ± 0.75 _a	0.14 ± 0.02 _a	0.45 ± 0.22 _a
	DHA20%	2.41 ± 0.29 _a	1.37 ± 0.16 _a	0.19 ± 0.01 _a	0.54 ± 0.05 _a
	DHA30%	2.04 ± 0.25 _a	1.65 ± 0.77 _a	0.15 ± 0.02 _a	0.46 ± 0.07 _a

* Valores promedio de tres replicas por tratamiento ± desviación estándar.

a,b: valores con letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Por otro lado, los valores encontrados en esta investigación se encuentran por debajo de lo reportado por Shao-Wei y Shu-Lan (2016), quienes encontraron una concentración de 3.9

mmol/L de colesterol HDL en sangre de tilapia alimentadas con dietas con un 80% de inclusión de harinas vegetales y con Mehrim (2014) quien reporto una concentración de 2.3 mmol/L de colesterol HDL en sangre de tilapia alimentada con una dieta con un nivel de inclusión del 75 % de harina vegetal. Respecto al colesterol LDL existió una tendencia en reducirse en filete y en sangre (postprandial) conforme se fue aumentando la inclusión de la semilla de alpiste en la dieta, esto pudo atribuirse a que a mayor inclusión de esta semilla existió una reducción de colesterol al haber menor cantidad de harina de calamar en el alimento (Tabla 18) y a la vez un mayor aporte de fitoesteroles (Tabla 21), evitando así el paso del colesterol al torrente sanguíneo y finalmente a hígado para su metabolismo y así repercutiendo principalmente en la síntesis endógena de colesterol LDL y su depósito en el organismo (Muñoz *et al.*, 2011; Arguezo *et al.*, 2011) Por otro lado, los niveles de colesterol LDL a nivel sanguíneo encontrados en esta investigación son más bajos a los reportados por Xu *et al.* (2018) quienes estudiaron el efecto de diferentes niveles de colesterol en la dieta de tilapia, reportando valores de 1.5 a 14.9 mmol/L de colesterol LDL.

Finalmente al igual que el colesterol LDL, se encontró una reducción en la concentración de triglicéridos en sangre (postprandial) y filete conforme se aumentó el nivel de semilla de alpiste en la dieta, esto pudo deberse que al haber una mayor presencia de fitoesteroles en la dieta (Tabla 21) estos evitan el paso de estos junto a colesterol a sangre disminuyendo su incorporación a los quilomicrones. Por otro lado, al haber un aumento del colesterol HDL después de ingerirse la dieta, este facilita la remoción de lípidos depositados a nivel periférico (tejidos) y llevarlos a hígado para su síntesis (Muñoz *et al.*, 2011, Miguel, 2009). Además de lo anterior, los niveles de triglicéridos encontrados a nivel muscular en esta investigación no concuerdan con Aiura y Barbieri (2007), quienes reportaron una concentración de 2.7 mmol/L en músculo de tilapia alimentadas con sorgo al 30 % en la dieta.

8.6. Análisis sensorial

En la Tabla 23, se muestran los resultados del análisis sensorial del filete de tilapia. En los atributos de color y textura no se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, hubo una mayor aceptación de los jueces por los filetes provenientes de las dietas

con semilla de alpiste, encontrándose diferencia significativa ($P < 0.05$) entre la dieta control y la dieta con 30 % de alpiste en los atributos de sabor y olor.

Lo anterior pudo deberse muy probablemente a que a mayor incorporación de la semilla de alpiste en la dieta generó cambios en la composición de grasa y en el perfil de ácidos grasos de la misma, suscitando un cambio principalmente en el sabor e indirectamente en el olor del filete (Montoya-Camacho *et al.*, 2018; Viera *et al.*, 2013; Nguyen, 2010).

Tabla 23. Atributos sensoriales del filete de tilapia

Atributo sensorial	Control	DHA10	DHA20	DHA30
Sabor	4.88 ± 2.57 ^a	5.75 ± 2.92 ^a	5.86 ± 2.69 ^a	6.21 ± 2.90 ^b
Olor	5.24 ± 2.37 ^a	5.99 ± 2.68 ^a	6.89 ± 2.07 ^a	6.92 ± 1.83 ^b
Textura	6.33 ± 2.05 ^a	5.98 ± 2.14 ^a	6.60 ± 1.59 ^a	7.44 ± 1.98 ^a
Color	6.25 ± 2.44 ^a	6.46 ± 1.96 ^a	7.07 ± 2.12 ^a	6.98 ± 1.96 ^a

* Valores promedio de tres replicas por tratamiento ± desviación estándar.

a,b: valores con letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

Por otro lado esto puede atribuirse a que a mayor inclusión de semilla de alpiste en las dietas disminuyó el porcentaje de harina de calamar (Tabla 18), teniendo este ingrediente un sabor y olor muy característicos lo cual influyó en el sabor y el olor final del filete, aumentando así la aceptación por los jueces a pesar de tener los filetes un bajo contenido de grasa. Lo anterior coincide con lo presentado en la Tabla 22 donde se observa una reducción de triglicéridos en el mismo, por lo cual se esperaría un cambio en su calidad sensorial característica y un posible rechazo por parte de los consumidores de pescado ya que la grasa en la carne es de gran importancia debido a su relación con la textura, jugosidad y el sabor (García *et al.*, 2008).

Se recomienda realizar nuevas investigaciones enfocadas en determinar la relación costo/beneficio de utilizar los tres niveles de inclusión de alpiste en el diseño de alimentos balanceados para tilapia, así mismo determinar la aceptación del producto filete de tilapia a nivel comercial con el objetivo de promover valor agregado al sistema producto tilapia de México.

9. CONCLUSIONES

- Niveles mayores al 10 % de inclusión de alpiste afectan la hidroestabilidad del alimento y modifican sustancialmente el contenido de esteroides de la dieta.
- La inclusión de alpiste hasta niveles del 30 % no afectan el crecimiento de la tilapia nilótica, por lo tanto, esta semilla puede recomendarse como un nuevo ingrediente no convencional en la fabricación de alimentos para crecimiento de tilapia.
- Los triglicéridos y las lipoproteínas de alta y baja densidad del filete de tilapia no se afectan por la inclusión de alpiste en el alimento, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula planteada en este sentido.
- La inclusión de alpiste en niveles de 30 % en el alimento mejora las cualidades organolépticas de sabor y olor del filete de tilapia, por lo tanto, es posible recomendar el uso de este nivel de inclusión para promover la calidad del filete.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.O.A.C. 2002. Official Methods of Analysis. 16^a edition. Ed. Association of Official Analytical Chemists, international Gaithersburg, E.U.U.
2. Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P., Patterson, C.A. and Gray, D. 2010. Fractionation of hairless canaryseed (*Phalaris canariensis*) into Starch, Protein, and Oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(11): 7046-7050.
3. Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P., Patterson, C.A. and Gray, D. 2011. Phytochemicals and heavy metals content of hairless canaryseed: A variety developed for food use. Food Science and Technology 44(4): 904-910.
4. Abdel-Aal, E.S.M., Hucl, P. and Sosulski, F. 1997. Characteristics of canaryseed (*Phalaris canariensis* L.) starch. Starch-Stärke 49(12): 475-480.
5. Aiura, F.S., and Barbieri, M.R. 2007. Body lipid deposition in Nile tilapia fed on rations containing tannin. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 42(1): 18-20.
6. Alcantar, J., Santos, C., Moreno, R. y Antonio, C. 2014. Manual para la producción de súper machos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Universidad del Papaloapan DES: Ciencias Agropecuarias Ingeniería en Acuicultura, Oaxaca, México. 20-24.
7. Alceste, C. 2000. Estado de la Acuicultura de la Tilapia. Artículo publicado en Acuicultura del Ecuador 25-29.
8. Al-Thobaiti, A., Al-Ghanim, K., Ahmed, Z., Suliman, E.M. and Mahboob, S. 2018. Impact of replacing fishmeal by a mixture of different plant protein sources on the growth performance in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. Brazilian Journal of Biology 78(3): 525-534.
9. Anaya, M.C. 2017. Effect of the aqueous extract of cereals with raw extract of *Pineapple comosus* on the serum levels of cholesterol and triacylglycerol of persons with dyslipidemia. SCIÉENDO Ciencia para el desarrollo 20(2): 71-81.
10. Argueso R., Díaz J.L., Díaz, J.A., Rodríguez, A., Castro, M. y Diz-Lois, F. 2011. Lípidos, colesterol y lipoproteínas. Galicia Clínica. Sociedad de Galega de Medicina Interna. 72 (Supl. 1): S7-S17.
11. Arosamena, D. 2009. Desarrollo de estrategias para la producción y comercialización de productos con valor agregado a partir de tilapia y aprovechamiento de los subproductos resultantes de su procesamiento. Comité Sistema Producto Tilapia de México Cd. de México.

12. Arteaga, F., Hernández, E. y Ramírez, S. 2012. Diseño de un centro de acopio y el manual de buenas prácticas de manufactura para el procesamiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) de cultivo acuícola. Tesis. Universidad de El Salvador. Facultad de Ingeniería y arquitectura. Escuela de Ingeniería Química. San Salvador, El Salvador.
13. Barreto, F., Durazo, E. y Viana, M.T. 2015. Crecimiento, excreción de amonio y consumo de oxígeno de la tilapia híbrida roja (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis aureus*) cultivada en agua de mar y en agua dulce. *Ciencias Marinas* 41(3): 247-254.
14. Basantes, C. 2015. Evaluación del uso de balanceado orgánico vs el alimento industrial sobre la conversión alimenticia de la *Oreochromis sp.* (Tilapia) criada en cultivo intensivo. Tesis. Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guayaquil, Ecuador.
15. Bauer, J.E. 1997. Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas. *Pet's Ciencia* 13: 362-376.
16. Benítez, G., González, M. y Molero, J. 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology* 129, 87-105.
17. Bertoni, M.H., Pereyra, A. y Cattaneo, P. 1997. Estudios sobre granos de cereales de producción nacional I. Composición química general de lípidos de extracción y harinas residuales de mijo (*Panicum miliaceum* L.), alpiste (*Phalaris canariensis* L.), cebada cervecera (*Hordeum distichum* L.) y avena (*Avena sativa* L.). Departamento de Química Orgánica (Orientación Bromatológica y Tecnológica de Alimentos). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina.
18. Bhatt, T., Coombs, M. and O'Neill, C. 1984. Biogenic silica fibre promotes carcinogenesis in mouse skin. *International Journal of Cancer* 34(4): 519-528.
19. Calvo M., Carranco, M., Salinas C. y Carrillo S. 2016. Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*. *Archivos latinoamericanos de nutrición* 66 (1).
20. Campabadal, C. y Celis, A. 1996. Factores que afectan la calidad de los alimentos acuícolas, En: Cruz, S., Ricque, D. y Mendoza, A. (Eds). *Memorias del tercer simposio internacional de nutrición y tecnología de alimentos para acuicultura.* (1996). Facultad

- de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. México. 523-540.
21. Cano F., Ayala, F. y López, A. 2016. Estómago, hígado, intestino, bazo y páncreas de los peces. Anatomía Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. Murcia, España.
 22. Carrillo, S., Bahena, A., Casas, M., Carranco, M.E., Calvo, C.C., Ávila, E. y Pérez, F. 2012. El alga *Sargassum spp.* Como alternativa para reducir el contenido de colesterol en el huevo. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 46(2): 18.
 23. Casas-Valdez, M., Portillo-Clark, G., Águila-Ramírez, N., Rodríguez-Astudillo, S., Sánchez-Rodríguez, I. y Carrillo-Domínguez, S. 2006. Efecto del alga marina *Sargassum spp.* Sobre las variables productivas y la concentración de colesterol en el camarón café, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900). Revista de Biología Marina y Oceanografía 41(1): 97-105.
 24. Castelló, F. 1993. Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Ciències Experimentals i Matemàtiques, Universidad de Barcelona, 242-248.
 25. Castello F. 2013. Piscicultura marina en Latinoamérica. Bases científicas y técnicas para su desarrollo. Universitat de Barcelona, Barcelona, España.
 26. CDSC (2011) Comisión del Desarrollo del Alpiste de Saskatchewan. En línea http://www.canaryseed.ca/documents/NutriFacts_brown_canaryseed_groats_2011.pdf
 27. CDSC (2017) Canaryseed Development Commission of Saskatchewan. Available online: <https://www.canaryseed.ca/about.html>
 28. Chasman, D., Posada, D., Subrahmanyam, L., Cook, N.R., Stanton, V.P. and Ridker, P. 2004. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. JAMA 291(23): 2821-2827.
 29. Chila, G. y Zevallos, R. 2018. Calidad del agua en piscinas de geomembrana y suelo para la cría de Chame (*Dormitator Latifrons*) Ubicadas En Área Agropecuaria, ESPAM MFL. Tesis. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta, Ecuador.
 30. Chou, B. and Shiau, S. 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. Aquaculture 143(2): 185-195.

31. Cicero, A.F., Vitale, G., Savino, G. y Arletti, R. 2003. *Panax notoginseng* (Burk.) effects on fibrinogen and lipid plasma level in rats fed on a high-fat diet. *Phytotherapy Research* 17(2): 174-178.
32. Classen, H., Cho, M., Hucl, P., Gomis, S. and Ann Patterson, C.A. 2014. Performance, health and tissue weights of broiler chickens fed graded levels of hairless hulled yellow and brown canary seed (*Phalaris canariensis* L.). *Canadian Journal of Animal Science* 94: 669-678.
33. Cogliatti, M. 2012. Cultivo de Alpiste. *Scientia Agropecuaria*. 3(1): 75-88.
34. Coppo, N.B., Coppo, J.A., and Lazarte, M.A. 2003. Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. *Revista de Veterinaria* 14:1-10.
35. CORPEI, K. 2005. Resumen de estudio: subsector tilapia, consultado el día 25 de septiembre de 2010. Disponible en <http://www.corpei.org/archivos/file/ecuador%20invest/RESUMEN%20SUBSECTOR%20TILAPIA.pdf>
36. Ctaqua. 2017. Alimentación optimizada para la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) de Senegal. Informe de Vigilancia Tecnológica. Ctaqua. Centro Tecnológico de la Acuicultura. Senegal, España.
37. Cuellar, E. y Porcel, F. 2010. Efectividad del licuado de alpiste como tratamiento reductor del colesterol, triglicéridos y el índice de masa corporal. *Revistas Bolivianas* 7:7-12.
38. De la Cruz, M. 2017. Comportamiento productivo y retención de Nitrógeno en cerdas alimentadas con dietas a base de alpiste (*Phalaris canariensis*). Tesis Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.
39. Demirbas, A. 2005. β -Glucan and mineral nutrient contents of cereals grown in Turkey. *Food Chemistry* 90: 773-777.
40. Deng J. M., Wang Y., Chen L. Q., Mai K. S., Wang Z. and Zhang X. 2015. Effects of replacing plant proteins with rubber seed meal on growth, nutrient utilization and blood biochemical parameters of tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *Aquaculture Nutrition* 23(1), 30-39.
41. Deng-Hang, Y., Shi-Yuan, G., Yong-Chao, Y., Zhi, L., Yu-Cong, L. and Qiang, L. 2013. Effect of partial replacement of fishmeal with soybean meal and feeding frequency on

- growth, feed utilization and body composition of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus* (Bleeker). *Aquaculture Research* 44 (3): 388-294.
42. El-Hanafy, A.E.A., Ramadan, M.F., Ahmed, M.H. and Showky, H.E. 2006. Changes in fatty acid composition, cholesterol contents and quality attributes of boliti (*Tilapia nilotica*) fingerlings in relation to dietary lipid levels and sources in feeding regime. *Dtsch. Lebensmitt. Rundsch.* 102, 518-522.
 43. El-Sayed, M.M., Ezzat, A.A., Kandeel, K.M., and Shaban, F.A. 1984. Biochemical studies on the lipid content of *Tilapia nilótica* and *Sparus auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 79(4), 589-594.
 44. El-Sayed, F. 2003 Protein Nutrition of Farmed Tilapia: Searching for Unconventional Sources. Faculty of Science University of Alexandria, 364-378.
 45. El-Sayed, A. 2006. Environmental Requirements. *Tilapia Culture*. 1st Edition, CABI Publishing, Cambridge, 34-46.
 46. Escobar, L., Olvera, M. and Puerto, C. 2006. Avances sobre la ecología microbiana del tracto digestivo de la tilapia y sus potenciales implicaciones. *Avances en Nutrición Acuícola VIII*. VIII Simposium International de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
 47. Ecurriol, V., Cofan, M., Serra, M., Bullo. M., Basora. J., Salas, J., Salas, J., Corella, D., Zazpe, I., Martínez, M.A., Ruiz, V., Estruch, R. and Ros, E. 2009. Serum sterol responses to increasing plant sterol intake from natural foods in the Mediterranean diet. *European Journal of Nutrition* 48(6): 373-82.
 48. Estrada, P. 2013. Identificación y caracterización de las propiedades biológicas de péptidos de alpiste: cereal empleado para el tratamiento de diabetes e hipertensión. Tesis de Posgrado. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, México.
 49. Estrada, P., Montero, G., Martínez, P., González, C. y Barba, A. 2014. Characterization of antidiabetic and antihypertensive properties of canary seed (*Phalaris canariensis* L.) peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 427-433.
 50. FAO. 2005. Cultured aquatic species information programme *Oreochromis niloticus*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Rakocy, J.E. In; Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO Roma. citado 9 septiembre 2013.

51. FAO. 2012. Fisheries global information system. In FAO. Assessed on the World Wide Web. [URL:http://www.fao.org/fishery/statistics/en](http://www.fao.org/fishery/statistics/en)
52. FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224.
53. FAO. 2017. Tilapia del Nilo - Formulación y preparación/producción de alimentos Alimento vivo (en línea). Consultado 26 Feb. 2017. Disponible en <http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/formulacion-y-preparacion-produccion-de-alimentos/es/>
54. FAO. 2018. Obtenido de Sistema de Información sobre Alimentos y Recursos Fertilizantes para la Acuicultura. Tilapia del Nilo. Requisitos nutricionales: (2001), 2007.
55. FAOSTAT. 2016. Cantidades de producción de alpiste por país. Recuperado de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/>
56. Fernández, M. y Ruiz, D. 2018. La Bioquímica en 100 preguntas. Editorial Nowtilus, S.L. Madrid, España, 20-25.
57. Ferrarotto, M.S. y Da Silva H. 2013. Germinación y morfología de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) *Poaceae*, bajo distintas condiciones de calidad de luz. *Polibotanica* 36: 95-104.
58. Ferreira, M.W., De Araujo, F.G., Costa, D.V., Rosa, P.V., Figueiredo, H.C. y Murgas, L.D. 2011. Influence of Dietary Oil Sources on Muscle Composition and Plasma Lipoprotein Concentrations in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42(1): 24-33.
59. Field, F.J. and Mathur, S.N. 1983. β -sitosterol: esterification by intestinal acylcoenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) and its effect on cholesterol esterification. *Journal of Lipid Research*. 1(4): 409-417.
60. Fitzsimmons, K. 2005. Tilapia culture. *Aquaculture in the 21 Century*. American Fisheries Society, Maryland, 643.
61. Furuya, W. 2010. Tabela Brasileira para a nutrição de tilapias, Gráfica Editora, Toledo. *ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia* 16(1).
62. Galvis R.D., Ramírez N.F. y Giraldo A. 2016. Extracción, cuantificación y distribución de las principales fracciones lipídicas en pequeñas biopsias de hígado de vacas en el periodo de transición. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 1(1).

63. García, G. 2012. Alimentos que ayudan a prevenir y combatir enfermedades. Palibrio, Bloomington, USA.
64. García, J.A., Núñez, F.A., Espino, G.J., Alarcón, A.D., Rentería, A.L., Chávez, C. y Espinosa, M.R. 2008. Características organolépticas de productos elaborados con carne de trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Tecnociencia Chihuahua* 2(3): 156-165.
65. García, V. y González, A. 2017. Elaboración de dietas balanceadas para *Cichlasoma trimaculatum* en etapa alevín. Tesis. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Chiapas, México.
66. Grajeda, C., Carvajal, E., Santana, V., Licón, A. y Márquez, R. 2012. Evaluación del efecto de un tratamiento alcalino sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la harina de alpiste (*Phalaris canariensis* L.). En A. Rodríguez y M. Carrasco Ediciones. ECITE Proceedings Book, Cuauhtémoc México: Instituto ENLAC.
67. Guerrero, G. y Barros, M.A. 2016. Comportamiento productivo en la engorda de tilapia gris Alimentadas con dietas a base de *Colacasia esculenta* en el Puyo, Ecuador. Tesis. Universidad Técnica de Ambato, Ambato Ecuador.
68. Guevara W. 2003. Formulación y elaboración de dietas para peces y crustáceos. Tesis. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Perú, 22, 24, 25.
69. Gutiérrez R., Ramírez, J., Ulloa, A., Bautista, P., Silva, J., García, C. y Ramírez, E. 2017. El alga kelp y la semilla de alpiste como ingredientes no convencionales en la alimentación de tilapia. *Abanico de biotecnologías pecuarias*. Primera edición, 175-185.
70. Gutiérrez-Leyva, R. 2006. Uso de harinas de *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum spp.*, en alimentos balanceados para el camarón *Litopenaeus vannamei*: efectos sobre el crecimiento y la digestibilidad in vivo. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, Baja California Sur, México. 84 pp.
71. Gylling, H. and Miettinen, T. 1994. Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolaemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. *Diabetologia* 37(8): 773-780.
72. Gylling, H., Puska, P., Vartiainen, E. and Miettinen, T. 1999. Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. *The Journal of Lipid Research* 40(4): 593-600.

73. Hailat, I.; Parrish, C. and Helleur R. 2016. Sterol composition of blue mussels fed algae and effluent diets from finfish culture. *Journal of Shellfish Research* 35 (2):429-434.
74. He, J.Y., Tian, L.X., Lemme, A., Gao, W., Yang, H.J., Niu, J., Liang, G.Y., Chen, P.F. and Liu, Y.J. 2013. Methionine and lysine requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of two sizes of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition* 19(4): 629-640.
75. Hernández, G. 2010. Cereales y productos derivados. En: Tratado de Nutrición. Tomo 2. Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos. Editorial Panamericana, 240-243.
76. Hernández, M., Rangel, C. y Peralta, A. 2003. Memorias de la reunión nacional de tilapia. Primer foro internacional de acuicultura un encuentro en el mercado. Secretaria de Agricultura, ganadería, desarrollo social, pesca y alimentación, 15-16.
77. Hernández, V. y Jiménez, G. 2013. Manual de elaboración de alimento alternativo para la producción de Tilapia (en línea). Instituto Tecnológico de Salina Cruz. Departamento de Acuicultura. Consultado 26 de ene. 2017. Disponible en http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/20/2013/anuales/anu_706-25-2014-05-7.pdf
78. Homma, Y., Ikeda, I., Ishikawa, T., Tateno, M., Sugano, M. and Nakamura, H. 2003. Decrease in plasma low-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein B, cholesteryl ester transfer protein, and oxidized low-density lipoprotein by plant stanol ester-containing spread: a randomized, placebo-controlled trial. *Nutrition* 19(4):369-374.
79. Hucl, P, Han, H.L., Abdel-Aal, E.M., and Hughes, I. 2001. Development and quality of glabrous canaryseed. AGRIS: International Information System for the Agricultural Science and Technology Recuperado de <http://www.agriculture.gov.sk.ca/19960287.pdf>
80. Hucl, P, Matus, M., Vandenberg, A., Sosulski, F., Abdel-Aal, E., and Hughes, A. 2000. CDC Maria annual canarygrass. *Canadian Journal Plant Science* 81(1): 115-116.
81. Hurtado, T. 2005. Inversión sexual en tilapias. Revisión bibliográfica. Perú: INH, Ingenieros Consultores. 43.
82. INIAP. 2016. Análisis físico químico de alimentos. Recuperado de http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com_content&view=article&id=89&Itemid=95

83. Iregui, C. 2000. Manual de Sanidad Acuicola. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Grupo de Fisiopatología Veterinaria, 24-25.
84. Jahreis, G., Wohlgemuth, S., Grünz, G., Martin, L., Knieling, M., Engel, R., Türk, M. and Keller, S. 2013. Dietary crystalline common-, micro-, nanoscale and emulsified nanoscale sitosterol reduce equally the cholesterol pool in guinea pigs, but varying nanosystems result in different sterol concentrations in serosal jejunum. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 9(7): 1027-1035.
85. James, D., Egna, H., Chopin, T., Peterson, M., Cao, L., Pomeroy, R., Verdegem, M., Slack, W., Bondad-Reantaso, M. and Cabello, F. 2013. Responsible Aquaculture in 2050: Valuing local conditions and human innovations will be key to success. *BioScience* 63(4): 255-262.
86. Jiménez G., Montejó M. and Carillo G. 2013. Manual: Elaboración de alimento alternativo para la producción de Tilapia. Instituto Tecnológico de Salina Cruz. Departamento de Acuicultura 3-26.
87. Katan, M.B., Grundy, S.M., Jones, P., Law, M., Miettinen, T., Paoletti, R. and Stresa Workshop Participants. 2003. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clinic Proceedings* 78(8): 965-978.
88. Kazi, N., Nafisa, N., Tahsina, A., Mahboob, H., Rahman, F. and Alam, F. 2018. Study of antioxidant and antimicrobial activity of *Phalaris canariensis* seed in different extracts. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* 7(8):150-158.
89. Latham, M. 2002. Cereales, raíces feculentas y otros alimentos con alto contenido de carbohidratos. En: *Nutrición humana en el mundo en desarrollo*. Colección FAO: Alimentación y nutrición N° 29. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/download/FB/FBS/S>
90. Lattanzio, V., Lattanzio, V.M.T. and Cardinali, A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research* 37(2): 23-67.
91. Li, W., Qiu, Y., Patterson, C. and Beta, T. 2012. The analysis of phenolic constituents in glabrous canaryseed groats. *Food Chemistry* 27(1): 10-20.
92. Liland, N.S., Espe, M., Rosenlund, G., Waagbø, R., Hjelle, J.I., Lie, Ø. Fontanillas, R. and Torstensen, B.E. 2013. High levels of dietary phytosterols affect lipid metabolism

- and increase liver and plasma TAG in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). The British journal of nutrition 110(11): 1958-1967.
93. Llanes, J. y Toledo, J. 2011. Desempeño productivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con la inclusión de altos niveles de harina de soya en la dieta. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 45(2): 182:186.
 94. Lobato, S., Reyes, H. y Vermont, E. 2000. Atributos Sensoriales de Textura Análogos de Quesos Bajos en Grasa. Alfa Editores Técnicos S. A. de C. V. Lácteos y Cárnicos Mexicanos 15(3): 13-20.
 95. Lottenberg, A.M.P., Nunes, V.S., Nakandakare, E.R., Neves, M., Bernik, M., Santos, J.E. and Quintao, E.C.R. 2002. Eficiência dos ésteres de fitoesteróis alimentares na redução dos lipídios plasmáticos em hipercolesterolémicos moderados. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 79(2): 139-142.
 96. Machado, M. 2015. Caracterização do extrato aquoso de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) e avaliação dos efeitos antioxidantes e hipoclicemiantes. Universidade Estadual de Campinas. Tesis. Universidad Estadual de Campinas. Facultad de Engenharia de Alimentos. Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia.
 97. Malhaes, D., Pezzato, A.C., Barros, M.M., Pezzato, L.E., and Nakagome, F.K. 2011. Hematología de tilapias-do-nilo alimentadas com dietas com oleos vegetais e estimuladas pelo frio. Pesquisa. Agropecuaria. Brasileira Brasilia 46 (3): 294-302.
 98. Mason, E., L-Hocine, L., Achouri, A. and Karboune, S. 2018. Hairless Canaryseed: a novel cereal with health promoting potential. Nutrients 10(9): 1327.
 99. Matus-Cadiz, M.A., Hucl, P. and Vandenberg, A. 2003. Inheritance of hull pubescence and seed color in annual canarygrass. Canadian Journal of Plant Sciences 83(3): 471-474.
 100. Mauer M., Miller, D., and Merrill, A. 2007. Hematologic and plasma biochemical values of healthy hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis niloticus*) maintained in a recirculating system. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 38(3): 420-424.
 101. Mehrim, A. 2014. Physiological, biochemical and histometric responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by dietary organic chromium (*Chromium picolinate*) supplementation. Journal of advanced research 5 (3): 303-310.
 102. Méndez-Martínez, Y., García-Guerreo, M.U., Arcos-Ortega, F.G, Martínez-Cordova, L.R., Yamasaki-Granado, S., Pérez-Rodríguez, J.C. y Cortés-Jacinto, E. 2017. Effect of

- dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth, feed utilization, body composition, digestive enzymes, histology hepatopancreas and hematology of juvenile cauque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate, 1968). *Aquaculture* 485: 1-11.
103. Méndez-Martínez, Y., Pérez-Tamames, Y., Reyes-Pérez, J.J. y Puente- Jiménez, V.D. 2018. *Azolla sp.*, Un alimento de alto valor nutricional para la acuicultura. Universidad de Sonora, *Revista Biotecnia* 20(1): 32-40.
104. Miettinen, T.A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H. and Vartiainen, E. 1995. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *The New England Journal of Medicine* 333(20): 1308-1312.
105. Miguel, P. (2009). Dislipidemias. Master en bioenergética y medicina natural, departamento de ciencias fisiológicas Universidad Medica <<Mariana Grajales Coello>>. Holguin, Cuba. *ACIMED* 20(6): 265-273.
106. Miravalles, M.T., Gallez, L.M. and Möckel, F.E. 2002. Alpiste: revisión de la situación del cultivo. *Revista Facultad de Agronomía* 22(1): 7-17.
107. Mjoun, K., Rosentrater, K. and Brown, M. 2010. Tilapia: Profile and Economic Importance. *SDSU Extension Fact Sheets* 23: 163.
108. Moghadasian, M.H. 2000. Pharmacological properties of plant sterols in vivo and in vitro observations. *Life Science* 67(6): 605-615.
109. Molina, M., Vázquez, C. y Ruiz, G. 1991. Metabolismo del colesterol, su regulación a nivel hepático e intestinal. *Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. Instituto de la grasa y sus derivados* 43(4): 298-308.
110. Montoya-Camacho, N., Hernández-Oloño, J.T., Márquez-Ríos, E., Rodríguez- Félix, F., Torres-Arreola, W., Castillo-Yañez, F.J., Canizalez-Rodríguez, D.F. y Ocaño-Higuera, V.M. 2018. Effect of the animal for plant protein substitution in the diet on the physiology of Nile tilapia. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Biotecnia* 20(2): 37-42.
111. Mora, W. 2016. Aprovechamiento de humedales para la producción de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) y tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en el barrio la hamaca perteneciente al canton paltas. Tesis. Universidad de Loja. Área agropecuaria y de recursos naturales renovables. Loja, Ecuador.

112. Moreno, J.M., Muñoz, A.P. y Wills, G.A. 2013. Efecto de la inclusión de diferentes fuentes de lípidos sobre parámetros productivos y composición proximal del filete de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) cultivada en jaulas flotantes. La Revista de Medicina Veterinaria y de Zootecnia 60(2): 100-111.
113. Moya G., De Oliveira F.G., Bizare, A., Oliveira W., Carvalho E. y Vicente A. 2018. Perfil bioquímico sérico de tilapias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques rede durante as estações do verão e inverno. Acta Scientiae Veterinariae 46(1):1529.
114. Moyano F. 2006. Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: aplicaciones en nutrición. Avances en nutrición acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey Nuevo León, México.
115. Muñoz, A., Alvarado, C., y Encina, C. 2011. Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. Horizonte Médico 11: 93-100.
116. Nauck, M., Warnick, G.R. and Rifai, N. 2002. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. Clinical Chemistry 48(2): 236-254.
117. Newkirk, R.W, Ram, J.I., Hucl, P., Patterson, C.A. and Classen, H. 2011. A study of nutrient digestibility and growth performance of broiler chicks fed hairy and hairless canary seed (*Phalaris canariensis* L.) products. Poultry Science 90(12): 2782-2789.
118. Ng, W. and Chong C. 2004. An overview of lipid nutrition with emphasis on alternative lipid sources in tilapia feeds. Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 241-248.
119. Nguyen, N.H., Ponzoni, R.W., Yee, H.Y., Abu-Bakar, K.R., Hamzah, A. and Khaw, H.L. 2010. Quantitative genetic basis of fatty acid composition in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) selected for high growth. Aquaculture 309(1-4), 66-74.
120. Noel, W. 2003. Formulación y elaboración de dietas para peces y crustáceos. Tesis doctoral, Universidad Nacional Jorge Basadre Groghmann. Perú.
121. NRC. 1993. National Research Council. Nutrient requirements of warm water fishes and Shellfishes. Washington, D.C., National Academy Press, 102.
122. Obaldo, L., Divakaran, S. and Tacon, A.G. 2002. Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. Aquaculture Research 33(5): 369-377.

123. Ogrodowska, D., Zadernowski, R., Czaplicki, S., Derewiaka, D. and Wronowska, B. 2014. Amaranth seeds and products. The source of bioactive compounds. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 64(3): 165-170.
124. Oliva, A. 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. Journal of Fish Diseases. 35(2): 83-108.
125. Olvera, N. y Olivera C. 1996. Nutrición y Alimentación de Tilapia. Primer Curso Internacional de Producción de Tilapia. SEMARNAP. UNAM. México, D.F. 158-175.
126. Osorio, J.H. 2013. Determinación de los niveles de colesterol LDL en una especie con patrón HDL. La Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú 24(3): 277-282.
127. Palou, A. 2005. El libro blanco de los esteroides vegetales, 2da Edición, Unilever Foods. S.A. España. 48-55.
128. Palou, A., Pico, C., Bonet, M., Oliver, P., Serra, F., Rodríguez, A., and Ribot, J. 2005. El libro blanco de los esteroides vegetales, 2da Edición, Unilever Foods. S.A. España. 48-5.
129. Patel, M. and Thompson P. 2006. Phytosterols and vascular disease. Atherosclerosis 186(1): 12-19.
130. Pérez, R.M., Madrigales, D., Horcacitas, M., García E., Cruz, T. y Mota, J.M. 2014. Ameliorative effect of hexane extract of *Phalaris canariensis* on high fat diet-induced obese and streptozotocin-induced diabetic mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 14:13.
131. Pezo, M. 2011. Elaboración de una bebida de alpiste (*Phalaris canariensis* L.) y su aplicación en ratas con hipercolesterolemia inducida experimentalmente. Renut, 5(16): 836-849.
132. Piepoli, M.F., Hoes, A.W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A.L., Cooney, M.T., Corra, U., Cosyns, B., Deaton, C., Graham, I., Hall, M.S., Hobbs, F.D.R., Lochen, M.L., Lollgen, H., Marques-Vidal, P., Perk, J., Prescott, E., Redon, J., Richter, D.J., Sattar, N., Smulders, Y., Tiberi, M., Verschuren, W.M.M., Binnos, S. and ESC Scientific Document Group 2016. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): Developed with the special

- contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Journal of Preventive Cardiology* 23(11):NP1-NP96.
133. Piironen, V., Lindsay, D., Miettinen, T., Toivo, J. and Lampi, A.M. 2000. Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(7): 939-966.
134. Plat, J, and Mensink, R.P. 2002. Effects of plant stanol esters on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase mRNA expression in mononuclear blood cells of healthy men and women. *The FASEB Journal* 16(2): 258-260.
135. Plaza, I. 2001. Los fitosteroles, el colesterol y la prevención de las enfermedades cardiovasculares. *Clínica e Investigación de Arterioesclerosis* 13(5): 209-218.
136. Pollak, O. 1953. Reduction of blood cholesterol in man. *Circulation* 7: 702-706.
137. Quinlivan, V.H., Wilson, M.H., Ruzicka, J. and Farber, S.A. 2017. An HPLC-CAD/fluorescence lipidomics platform using fluorescent fatty acids as metabolic tracers. *The Journal of Lipid Research* 58 (5): 1008-1020.
138. Rocha M., Banuls C., Bellod L., Jover A, Victor V.M. and Hernandez-Mijares, A. 2011. A review on the role of phytosterols: new insights into cardiovascular risk. *Current Pharmaceutical Design* 17 (36): 4061-75.
139. Rodríguez, A. 2017. Programa de adherencia a la dieta en sujetos con diabetes Mellitus tipo 2 y su efecto en los índices de peso y masa corporal: estudio exploratorio. Universidad Nacional Autónoma de México. *Revista Electrónica de Psicología Iztacala* 20(2): 479-501.
140. Rodríguez. I y Del Águila. J. 2015. Actividad hipolipemiente del extracto acuoso de semillas de *Phalaris canariensis* (Alpiste) en ratas albinas Holtzman. Tesis de maestría. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Perú.
141. Rodríguez L. 2016. Obtención de concentrados proteicos de Alpiste (*Phalaris canariensis*) y evaluación de su capacidad inhibitoria de la per oxidación lipídica en larvas de pez cebra (*Danio rerio*). Tesis. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias e Ingeniería de Alimentos. Ambato Ecuador.
142. Rodríguez-Rodríguez, J., Amaya-Guerra, C., Caballero-Mata, P., Alanís-Guzmán, M.G., Aguilera-González, C., Báez-González, J., Moreno-Limón, S. y Núñez- González, A. 2014. Optimización de un método para la determinación de fitoesteroles y escualeno

- en ácidos grasos destilados usando la metodología de superficie de respuesta y su validación. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 45 (4).
143. Ros, E. 2006. Doble inhibición del colesterol: papel de la regulación intestinal y hepática. Revista Española de Cardiología 6: 52G-62G.
144. Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R. and O'Brien, N.M. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains and legumes. Plant Foods for Human Nutrition 62(3): 85-91.
145. Saez, L., Cancino, M., Diaz, C. and Maino, M. 2013. Factores que afectan las decisiones de compra de tilapia (*Oreochromis spp.*) en consumidores del gran Santiago. Departamento de gestión agraria. Universidad de Santiago de Chile. Avances en Ciencias Veterinarias 28(1): 11-18.
146. Salah, H., Kchaou, M., Kolsi, B., Abdennabi, R., Ayedi, M., Gharsallah, N. and Allouche, N. 2017. Chemical Composition, Characteristics Profiles and Bioactivities of Tunisian *Phalaris canariensis* Seeds: a Potential Source of ω -6 and ω -9 Fatty Acids. Journal of Food and Nutrition Research, 67(7): 801-812.
147. Sánchez, K. y Escalera, C. 2012. Comparación química y funcional de tres dietas comerciales y una experimental, a través de la tasa de crecimiento de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) y su efecto en la calidad del agua. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR, Juliapan, Michoacán, México. 40-60.
148. Sanhueza, J., Valenzuela, R., y Valenzuela, A. 2012. El metabolismo del colesterol: cada vez más complejo. Grasas y aceites 63(4): 373-383.
149. Santiago H., Teixeira L.F., Izabel M., Lopes J., Kazue N., Guilherme F., Saraiva A., Texteira M.L., Borges P., De Oliveira, R.F., Toledo, S.L. y Oliveira, C. 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos. Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. Universidad Federal de Vicosa. Departamento de Zootecnia. 210-223.
150. Santosh, P. 2002. The Minerals in: 254-308 Fish Nutrition, Academic Press, San Diego, USA, 824.
151. Shao-Wei, Z. and Shu-Lan, L. 2016. Effects of dietary quercetin on growth performance, serum lipids level and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Italian Journal of Animal Science 12(4).

152. Silva, P., Pinheiro, A.C., Rodríguez, L., Figueroa, V. and Baginsky, C. 2016. Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que los modifican. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 66 (1): 17-25.
153. Silveira, M.B., Monereo, S. y Molina, B. 2003. Alimentos funcionales y nutrición optima ¿cerca o lejos? *Revista española de salud pública*, 77(3): 317-331.
154. Singh, V., Moreau, R.A. and Hicks, K.B. 2003. Yield and phytosterol composition of oil extracted from grain sorghum and its wet-milled fractions. *Cereal Chemistry* 80(2): 126-129.
155. Sissener, N.H., Rosenlund, G., Stubhaug, I. and Liland, N.S. 2018. Tissue sterol composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) depends on the dietary cholesterol content and on the dietary phytosterol: cholesterol ratio, but not on the dietary phytosterol content. *British Journal of Nutrition* 119(6): 599-609.
156. Smith, B.J., Smith, S.A., Tengjaroenkul, B. and Lawrence, T.A. 2000. Gross morphology of the adult intestinal tract of the tilapia fish *Oreochromis niloticus* L. *Cell Tissues Organs* 166(3): 294-303.
157. Sokal, R. and Rohlf, F. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. (W.H. Freeman and Co.), third edition. New York, USA.
158. Srinivasan, M., Sudheer, A.R. and Menon, V.P. 2007. Ferulic acid: Therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of Clinical. Biochemistry and Nutrition* 40(2): 92-100.
159. Tacon, A. and Metian, M. 2015. Feed Matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 23(1): 1-10.
160. Takagi, T. and Iida, T. 1980. Antioxidant for fats and oils from canary seed: Sterol and triterpene alcohol esters of caffeic acid. *Journal of the American Oil Chemists Society* 57(10): 326-330.
161. Tebot, C. 2000. *Fisiología metabólica de los rumiantes*. Montevideo: Editorial CSIC. Montevideo, Uruguay. 23-25.
162. Thacker P.A. 2003. Performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs fed diets containing graded levels of canary seed. *Canadian. Journal of Animal Science* 83(1): 89-93.

163. Torres, N., Diana, M., Hurtado, R. and Nery, V. 2012. Requerimientos nutricionales para tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) Orinoquia, Universidad de Llanos, Colombia 16(1): 3-68.
164. Trewavas, E. 1983. Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum of Natural History, London.
165. Triana, P., Gutiérrez, M. y Eslava, P. 2013. Rendimiento productivo e hígado graso en tilapia híbrida (*Oreochromis spp*): Influencia de dos fuentes de lípidos. ORINOQUIA. Universidad de Llanos. Villavicencio, Meta, Colombia 17(2).
166. Tupac, I. 2016 Nutrigenómica de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) alimentada con diferentes fuentes de ácidos grasos. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Dpto. Producción Animal. Madrid, España.
167. Valdez-González, F.J., Gutiérrez-Dorado, R., García-Ulloa, M., Cuevas-Rodríguez, B.L. y Rodríguez-González, H. 2018. Effect of fermented, hardened, and dehulled of chickpea (*Cicer arietinum*) meals in digestibility and antinutrients in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*). Spanish Journal of Agricultural Research 16(1): 1-10.
168. Valenzuela, A. 2004. Los fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. Revista Chilena de Nutrición 31(supp1):161-169.
169. Vanhanen, H.T., Kajander, J., Lehtovirta, H. and Miettinen, T. 1994. Serum levels, absorption efficiency, fecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolemic subjects. Clinical Science 87(1): 61-67.
170. Viera de Azevedo, R., Teles, W.C. and Tavares, L.G. 2013. Oleo e torta de dende em racoes para juvenis de tilapia-do-nilo. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 48(8): 1028-1034.
171. Villarreal, V. 2011 Pharmacognostic study of *Phalaris canariensis* L. “birdseed” seed and its quantification of sterols. Tesis. Departamento Académico de Farmacognosia de la UNT-Perú. 11-23.
172. Xu, C., Li, E., Xu, Z., Su, Y., Lu, M., Qin, J.G., Chen, L. and Wang, X. 2018. Growth and stress axis responses to dietary cholesterol in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish water. Frontiers in Physiology 26(9): 254.

173. Yagüez, J.L. 2002. Alpiste: un cultivo olvidado. Convenio INTA - Ministerio de Asuntos Agrarios de la provincia de Buenos Aires. www.inta.gov.ar/barrow/info/documentos/agricultura/alpiste/alpiste/.pdf
174. Zangerberg, M., Hansen, H.B., Jorgensen, J.R. and Hellgren, Ll. 2004. Cultivar and year to year variation of phytosterol content in rye (*Secale cereal* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 52(9): 2593-2597.
175. Zhijie, C, Lilei, Y, Xinkun, W, Zhenxin, G. and Trust, B. 2016. Changes of phenolic profiles and antioxidant activity in canaryseed (*Phalaris canariensis* L.) during germination. Food Chemistry 1(194): 608-618.

11. ANEXO I.

Tabla 24. Resultados de factores antinutricionales de las dietas experimentales del bioensayo TIL1801-ALP (concluido en 2015), y de los análisis determinados en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (Ciudad de México).

FAN	CONTROL	DHA10	DHA20	DHA30
Glucósidos Cianogénicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Alcaloides	Escaso	Escaso	Escaso	Escaso
Ácidos tánico (mg/100 g)	291.3 ± 0.7	180.6 ± 1.2	181.4 ± 1.9	440.4 ± 1.9
Inhibidor de tripsina (UIT/g)	2348.6 ± 60.0	3678.5 ± 92.5	4823.6 ± 181.6	4461.8 ± 37.4
Saponinas	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Claves: DHA10 dieta con 10% de inclusión de alpiste; DHA20 dieta con 20% de inclusión de alpiste; DHA30 dieta con 30% de inclusión de alpiste.