



EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE PROTEÍNA ANIMAL POR VEGETAL EN EL ALIMENTO SOBRE LA FISIOLÓGÍA DE LA TILAPIA DEL NILO

EFFECT OF THE ANIMAL FOR PLANT PROTEIN SUBSTITUTION IN THE DIET ON THE PHYSIOLOGY OF NILE TILAPIA

Nathaly Montoya-Camacho¹, Jesús Tadeo Hernández Oloño², Enrique Márquez Ríos¹, Francisco Rodríguez-Félix¹, Wilfrido Torres-Arreola¹, Francisco Javier Castillo Yañez², Dalila Fernanda Canizales-Rodríguez², y Víctor Manuel Ocaño Higuera^{2*}

¹ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83000.

² Departamento de Ciencias Químico Biológicas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83000.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de tres niveles de sustitución de proteínas de origen animal por vegetal sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*. Para ello, se formularon alimentos experimentales con 0, 50 y 100% sustitución de proteína animal por proteína vegetal. Los alimentos tuvieron un 37% de proteína y un contenido calórico de 17.6 kJ/g. Para la sustitución se utilizó una mezcla de harinas de soya, trigo, maíz y sorgo. El efecto de los alimentos se evaluó en un bioensayo de 60 días, suministrando diariamente los alimentos a las 09:00, 13:00 y 17:00h. Para evaluar la condición fisiológica se cuantificó la concentración de ATP, carbohidratos totales, glucógeno y pH del tejido muscular. Asimismo, se calculó la carga energética adenilada (AEC) y se determinó la composición química de las dietas experimentales y del músculo. Los resultados obtenidos indicaron que los niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, no afectaron ($P < 0.05$) la condición fisiológica de las tilapias, por lo que la utilización de proteínas de origen vegetal representa una alternativa viable y con gran potencial comercial para cultivar tilapia y poder reducir los costos de producción ocasionados por el alimento.

Palabras Claves: Tilapia, fisiología, sustitución de proteína, harina de pescado.

ABSTRACT

The effect of three levels of substitution of animal- by vegetal-origin proteins on the physiological condition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* was determined. For such evaluation, 3 experimental diets with 0, 50 and 100 % of animal for vegetable protein substitution were formulated with 37% protein content and 17.6kJ/g of energy soybean, wheat, maize and sorghum flours were used for the substitution. The effect of the experimental diets was evaluated in a 60-days bioassay, supplying the food daily at 9:00, 13:00 and 17:00h. ATP concentration, glycogen content, total carbohydrates and pH were quantified at the end of the bioassay. The adenylated energy charge (AEC) was also calculated and

the chemical composition of the experimental diets and tilapia muscle were determined. Our results indicated that the substitution levels of animal- for plant-proteins, did not affect the tilapia physiological condition, therefore the use of proteins of vegetal origin represents a viable alternative with great commercial potential to cultivate tilapia and reduce the production costs associated to the tilapia diet.

Key Words: Tilapia, physiology, protein substitution, fish meal.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la acuicultura representa una actividad económica importante, produciendo un total de 73.8 millones de toneladas en el 2014 (FAO, 2016), siendo las principales especies cultivadas la carpa, la almeja japonesa, camarón, salmón y la tilapia. Esta última, se cultiva extensivamente por su facilidad de siembra, así como por su resistencia y tolerancia a determinadas condiciones ambientales, entre las cuales se encuentra la temperatura (entre 12 y 42°C) y pH (6.5 y 9.0), además de que es un organismo omnívoro. A nivel mundial, se produjeron 3.67 millones de toneladas de tilapia en el año 2014 (FAO, 2016), mientras que en México se produjeron 96,827 toneladas en el 2013 (CONAPESCA, 2013), lo que representó un 39.40 % de la producción nacional por cultivo.

En la acuicultura, se utilizan diferentes fuentes de proteínas para la elaboración del alimento, siendo la harina de pescado la más empleada (FAO; 2012). Esto se debe a su contenido y buen balance de aminoácidos y ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales, así como su palatabilidad, alto contenido en proteína (64-68 %) y su mayor digestibilidad (Suárez *et al.*, 2009). El precio de la harina de pescado en el mercado es de aproximadamente 700 USD por tonelada, por lo que esto hace que el alimento represente uno de los gastos más elevados durante el cultivo, el cual oscila entre el 40 y 70 % del costo total de la producción. Este precio de la harina de pescado se debe a la mayor demanda que posee y a la inestabilidad de existencia del producto en el mercado (IFFO, 2006; Duarte *et al.*, 2009; Naylor *et al.*, 2009), por consiguiente, se ha tenido que recurrir a la búsqueda de proteínas

*Autor para correspondencia: Víctor Manuel Ocaño Higuera
Correo electrónico: victor.ocano@unison.mx

Recibido: 05 de septiembre de 2017

Aceptado: 09 de enero de 2018

alternativas más baratas pero igual de eficiente que la de pescado (Salze *et al.*, 2010). Esto con la finalidad de reducir los costos de producción. En este sentido, las harinas vegetales tienen gran potencial de utilización debido a que tienen un menor costo, existe mayor disponibilidad y se puede mejorar la composición del alimento.

Ayaid *et al.* (2012) compararon distintas fuentes alternativas de proteínas vegetales (harinas de maíz, trigo, semillas de girasol, semillas de algodón) para poder determinar las ventajas y desventajas de utilizar estas fuentes vegetales. Estos investigadores encontraron que algunas proteínas de origen vegetal presentan deficiencias de aminoácidos esenciales como la lisina y metionina, en consecuencia, resulta importante utilizar mezclas de proteínas de origen vegetal para evitar estas deficiencias, lo cual también se podría reducir fortificando los alimentos con aminoácidos cristalizados. Por otra parte, Elangovan y Shim (2000) recomendaron una sustitución parcial de la harina de pescado por harina de soya de hasta un 33 %, ya que una sustitución mayor tiene efectos adversos en el crecimiento del pez *Barbodes altus*. En este mismo aspecto, Burr *et al.* (2012) indicaron que el nivel de la sustitución de la proteína de origen animal por vegetal en el alimento depende principalmente de la selección adecuada de mezclas de las diferentes fuentes (harinas vegetales y/o derivados). En función de lo anterior, la sustitución de la harina de pescado por una mezcla compleja de proteínas de origen vegetal puede reducir la exposición a los factores antinutricionales individuales y mejorar el aprovechamiento (Olvera-Novoa *et al.*, 1990). De esta forma, Ajani *et al.* (2016), describieron que la harina de pescado podía sustituirse completamente por harina de soya suplementada con metionina sin tener efectos negativos en el crecimiento de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*.

Por otra parte, factores previos al sacrificio de los peces, como la temperatura del medio, el estrés y sobre todo la alimentación, juegan un papel importante en la condición fisiológica de los organismos, por lo que se ha descrito que algunos organismos con una inadecuada alimentación presentan una condición fisiológica pobre y en consecuencia no se desarrollan adecuadamente. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal en diferentes niveles de inclusión en el alimento, sobre la condición fisiológica de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación y elaboración de los alimentos experimentales

Se formularon y elaboraron tres alimentos experimentales isoprotéicos e isoenergéticos con 37 % de proteína total y 17.6 kJ/g de energía. Se incluyó la harina de pescado en 20, 10 y 0 % en los alimentos, lo que representó una sustitución de una mezcla de proteínas de origen vegetal en 0, 50 y 100 %, respectivamente (Tabla 1). De igual forma, se utilizó

Tabla 1. Formulación de los alimentos experimentales.

Table 1. Formulation of experimental diets.

Tratamientos	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
Inclusión Harina de Pescado (%)	20	10	0
Sustitución de Harina de Pescado (%)	0	50	100
Ingredientes (g/Kg)			
Harina de sardina ²	200.0	100.0	0.0
Pasta de soya ¹	373.9	549.8	725
Harina de maíz ¹	150.0	114.5	150.0
Harina de trigo ¹	150.0	150.0	50.0
Harina de sorgo ¹	51.5	10.0	5
Aceite de sardina ²	43.5	44.6	38.9
Lecitina de soya ³	10.0	10.0	10.0
Premezcla de vitaminas ⁴	8.0	8.0	8.0
Premezcla de minerales ⁵	5.0	5.0	5.0
Fosfato de sodio dibásico ⁶	5.0	5.0	5.0
Cloruro de colina ¹	2.0	2.0	2.0
Vitamina C ⁷	1.0	1.0	1.0
BHT ⁸	0.1	0.1	0.1
Total	1000.0	1000.0	1000.0

Promotora Industrial Acuasisistemas, S.A. de C.V., La Paz, BCS, México.

Pescarina de Guaymas S.A de C.V.

ODONAJI. Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales S.A. de C.V., México, D.F.

Composición de la premezcla de vitaminas (g/kg premezcla): Vit. A 5, D₃ 0.001, E 8, menadiona 2, B₁ 0.5, B₂ 3, B₆ 1, DL-Ca- Pantotenato 5, ácido nicotínico, H 0.05 inositol 5, B₁₂ 0.002, ácido fólico 0.18, α-celulosa 865.266.

Composición de la premezcla minerales (g/100 g premezcla): CoCl₂ 0.004, CuSO₄·5H₂O 0.25, FeSO₄·7H₂O 4, MgSO₄·7H₂O 28.398, MnSO₄·H₂O 0.65, KI 0.067, Na₂SeO₃ 0.01, ZnSO₄·7H₂O 13.193, α-celulosa 53.428.

SIGMA Cat No. S-0876. SIGMA-ALDRICH Chemical Company, St. Louis, MO, USA.

Stay C (35% agente activo). Roche, México, D.F.

Hidroxitolueno butilado, ICN Cat. No.101162. Aurora, Ohio, USA.

Valores son medias de tres repeticiones ± DS.

un alimento comercial (Ziwler®) con el mismo contenido de proteína de los alimentos experimentales, como control. Los alimentos experimentales se formularon utilizando el software Nutrión 5 PRO®. Para elaborar los alimentos experimentales, se molieron finamente los ingredientes sólidos (pasta de soya, harina de maíz, harina de trigo y harina de sorgo) en un molino Cyclotec y se cernieron en un tamiz de 500 µm. Seguidamente, se adicionaron los ingredientes secos (premezcla de vitaminas, premezcla de minerales, fosfato de sodio dibásico, cloruro de colina, vitamina C y BHT) y una emulsión de aceite de sardina-lecitina de soya. Posteriormente, a la mezcla se le adicionaron 500 mL de agua para alcanzar un 18 % de humedad y se mezcló por 10 minutos en una mezcladora Kitchenaid®. La pasta resultante se extruyó en un extrusor Brabender (Modelo E 19/25 D, Instruments Inc, South Hackensack, NJ U.S.A) con un tornillo # 3 y las temperaturas empleadas para su elaboración fueron de 80-95-125-140°C. Se obtuvieron los pellets de 3.4 mm de diámetro

y con aproximadamente 8 % de humedad. Finalmente, los pellets se cortaron manualmente para almacenarse en bolsas de polietileno (Ziploc®) hasta su utilización.

Organismos

Para el presente estudio se utilizaron organismos adultos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), con una longitud y peso promedio de 18.8 ± 0.3 cm y 123 ± 6.3 g, respectivamente. Los especímenes se obtuvieron del Laboratorio CriLab localizado en "La Victoria" en Hermosillo, Sonora y se transportaron durante 40 min por vía terrestre en tanques de fibra de vidrio (Rotoplas®) de 250 L al Laboratorio Húmedo del Departamento de Investigaciones Científica y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS) en Hermosillo Sonora. Una vez en las instalaciones del DICTUS, los organismos se trasladaron en lotes de 10 organismos por tanque para su aclimatación y posterior estudio.

Bioensayo

El sistema experimental estuvo constituido por 16 tanques de 250 L de capacidad cada uno, los cuales se llenaron con 230 L de agua dulce y se les suministró aireación constante. Se emplearon 4 tanques para cada tratamiento (0, 50 y 100 % de sustitución y el control). Los organismos se distribuyeron aleatoriamente a razón de 10 organismos por tanque, equivalentes a una densidad de siembra de 67 tilapias/m³. Durante el estudio se controló la temperatura ($26.7 \pm 0.39^\circ\text{C}$), oxígeno disuelto (5.2 ± 0.75 mg/mL) y pH del agua (7.9 ± 0.15). Previo al bioensayo, los organismos se aclimataron durante 10 días con un alimento balanceado comercial (Zeigler®) con 38 % de proteína. Una vez aclimatados se realizó un bioensayo durante 60 días, periodo en el cual las tilapias se alimentaron con los tres alimentos experimentales y el alimento control. La tasa de alimentación diaria fue de 2.5 % del peso corporal húmedo, suministrando el alimento en tres raciones diarias (09:00, 13:00 y 17:00 h). Diariamente, los tanques se sifonearon con una manguera para eliminar excretas y residuos de alimento (González-Félix *et al.*, 2010). Asimismo, se llevó a cabo un recambio diario aproximado al 90 % del volumen de agua de cada tanque.

Composición química de los alimentos experimentales y músculo de tilapia

Para determinar humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda en los alimentos experimentales se emplearon los métodos oficiales 930.15, 942.05, 976.05, 2003.05 y 978.10 (AOAC, 2012), respectivamente, mientras que para la determinación química del músculo se emplearon los métodos 952.08, 938.08, 940.25, 248.16 y 978.10, en el mismo orden, recomendados por la AOAC (2012). Para cada análisis se utilizó una n=3.

Evaluación de la condición fisiológica

Una vez transcurrido el bioensayo de 60 días, las tilapias se sacrificaron por choque térmico empleando agua y hielo molido. Inmediatamente, se filetearon manualmente y

cada filete se empacó en bolsas de polietileno y se congeló a -80°C en un ultracongelador vertical Thermo Scientific de -86°C (Ohio USA), en donde permanecieron congelados hasta el momento de su análisis. Para evaluar la condición fisiológica de la tilapia se cuantificó ATP, carga energética adenilada, glucógeno, carbohidratos totales y pH. Para cada análisis se empleó una n = 6.

A continuación se presentan las metodologías que se emplearon para evaluar la condición fisiológica.

Cuantificación del ATP

La identificación y cuantificación del ATP se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de acuerdo a la metodología descrita por Ryder (1985). Para ello se preparó un extracto muscular con ácido perclórico 0.6 M, el cual se neutralizó e inyectó a un cromatógrafo Agilent Technologies (Modelo 260 Infinity Series), equipado con una columna Agilent de fase reversa C18 Ultrasphere ODS de 4.6 mm de diámetro interno x 250 mm de largo (Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA).

Carga energética adenilada (CEA)

El cálculo de la CEA en el músculo de tilapia se llevó a cabo de acuerdo a la ecuación de Maguire *et al.* (1999): $\text{CEA} = ([\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]) / ([\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}])$. Para ello, se calcularon las concentraciones de ATP, ADP y AMP de acuerdo a la metodología descrita por Ryder (1985).

Contenido de carbohidratos totales y glucógeno

La cuantificación del contenido de carbohidratos totales y glucógeno se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Racotta *et al.* (2003). Para ello, se preparó un homogeneizado con ácido tricloroacético (TCA) frío al 10%, el cual se centrifugó y del sobrenadante se tomó una alícuota la cual se hizo reaccionar con el reactivo de antrona (0.1 % de reactivo disuelto en ácido sulfúrico al 76 %). La reacción se llevó a cabo en un baño de agua marca Fisher (Minnesota, USA) a 90°C por 5 minutos. Posteriormente, se enfrió y se midió absorbancia a 620 nm contra un blanco en un espectrofotómetro Agilent Technologies (Cary 60 Uv-Vis) (Malasia). La cantidad de carbohidratos totales se cuantificaron como mg de glucosa/g de músculo usando una solución de glucosa como estándar (0.0156 – 4.0000 mg de glucosa/mL). Para determinar el contenido glucógeno se empleó el mismo procedimiento salvo que a la alícuota obtenida del sobrenadante se le adicionó etanol frío al 95 % para precipitar el glucógeno y posteriormente resuspender en un mL de agua y realizar la reacción con el reactivo de antrona.

Determinación del pH

La determinación de pH se llevó a cabo por la metodología descrita por Woyewoda *et al.* (1986), para ello se realizó un homogeneizado del músculo con agua destilada y se midió el pH empleando un potenciómetro Thermo Electron Co. Orion 420 A (Champaign Illinois, USA).

Análisis estadístico

El análisis de los datos se llevó a cabo con el software estadístico NCSS 2000 (NCSS, Kaysville, UT). Las herramientas estadísticas que se utilizaron fueron promedio y desviación estándar, así como análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Tukey. Se utilizó un nivel de significancia del 5 %. Para la determinación de los indicadores fisiológicos se utilizó una n = 6 y para la composición proximal una n=3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los alimentos experimentales

En la Tabla 2 se presenta la composición química de los 3 alimentos experimentales elaborados (D₀, D₅₀, D₁₀₀) y el control (D_c). En ella, se puede observar que no se encontraron diferencias significativas (P ≥ 0.05) en el contenido de humedad y proteína, pero sí en el contenido de grasa cruda, cenizas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (ELN) (P < 0.05). En el caso de la grasa cruda, la D_c (4.6 ± 0.1) fue significativamente (P < 0.05) menor que los 3 alimentos experimentales (6.2 ± 0.1 %), lo cual se debió a que en la formulación de estos últimos se incorporó aceite comercial de sardina. En el caso del contenido de cenizas se encontró que la D_c presentó un valor de 8.8 ± 0.0 %, el cual es mayor que el 5.6 ± 0.1 % obtenido para D₀, D₅₀ y D₁₀₀. Esta diferencia se puede atribuir a que D_c presenta un mayor contenido de harina de pescado, la cual es rica en minerales como el calcio que incrementan el porcentaje de minerales entre 12 y 16 % (IFFO, 2006). En cuanto a fibra cruda y ELN, los porcentajes obtenidos en la D_c (4.5 ± 0.1 y 35.3 ± 0.9, respectivamente) fueron estadísticamente diferentes y menores que D₀, D₅₀ y D₁₀₀, en donde se obtuvieron valores entre 36.8 y 37.0 %. Esto se puede deber a la alta cantidad de almidón y fibra cruda que tienen las harinas vegetales utilizadas en el presente estudio.

Composición química del músculo de tilapia

En la Tabla 3 se presenta el efecto de los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución (D₀, D₅₀ y

Tabla 2. Composición química de las distintas dietas experimentales y control.

Table 2. Chemical composition of processed experimental and control diets.

	D _c	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
Humedad (%)	8.8 ± 0.7 ^a	8.9 ± 0.2 ^a	8.8 ± 0.4 ^a	8.8 ± 0.6 ^a
Proteína Cruda (%)	38.0 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a	37.6 ± 0.2 ^a
Grasa Crudos (%)	4.6 ± 0.1 ^a	6.2 ± 0.0 ^b	6.2 ± 0.0 ^b	6.2 ± 0.1 ^b
Cenizas (%)	8.8 ± 0.0 ^a	5.6 ± 0.1 ^b	5.6 ± 0.0 ^b	5.6 ± 0.1 ^b
Fibra Cruda (%)	4.5 ± 0.1 ^a	4.8 ± 0.1 ^b	4.8 ± 0.1 ^b	4.6 ± 0.1 ^b
ELN (%)	35.3 ± 0.9 ^a	36.8 ± 0.5 ^b	36.8 ± 0.4 ^b	37.0 ± 0.4 ^b

Los valores representan el porcentaje promedio de n= 3 ± desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50 % de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05). ELN = Extracto libre de nitrógeno.

Tabla 3. Composición química de los músculo de tilapia alimentada con las distintas dietas experimentales y control.

Table 3. Muscle chemical composition of tilapia fed with different levels of substitution of animal for vegetable protein and control.

	D _c	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
Humedad (%)	77.0 ± 0.3 ^a	77.3 ± 0.7 ^a	77.3 ± 0.6 ^a	77.9 ± 0.6 ^a
Proteína Cruda (%)	13.3 ± 0.7 ^a	12.0 ± 0.8 ^a	12.7 ± 0.2 ^a	12.7 ± 0.0 ^a
Grasa Cruda (%)	4.3 ± 0.4 ^a	4.3 ± 0.1 ^a	4.6 ± 0.3 ^a	5.3 ± 0.0 ^b
Cenizas (%)	2.5 ± 0.2 ^a	2.7 ± 0.3 ^a	3.3 ± 0.0 ^b	3.3 ± 0.1 ^b
Carbohidratos (%)	1.3 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.1 ^a

Los valores representan el porcentaje promedio de n= 3 ± desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50% de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05).

D₁₀₀) de proteína de origen animal por vegetal y control, sobre la composición proximal del músculo de tilapia. En ella se puede observar que no se encontraron diferencias significativas (P ≥ 0.05) entre los tratamientos en humedad, proteína y fibra cruda, mientras que si se afectaron significativamente (P ≥ 0.05) el contenido de grasa cruda y cenizas. Con respecto al contenido de grasa cruda, el porcentaje se incrementó con el aumento del nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteína de origen vegetal. Lo anterior se puede deber a que con el aumento de sustitución de proteínas de pescado por proteínas de origen vegetal se aumenta la cantidad de ELN en forma de almidón en el alimento, lo que obliga al metabolismo de la tilapia a producir mayor cantidad de amilasas en su organismo y con ello, se aprovecha más el almidón como energía de reserva y se almacena en el músculo en forma de glucógeno y grasa. Vilhelmsson *et al.* (2004) indicaron que el metabolismo de truchas arcoiris *Oncorhynchus mykiss* alimentadas con dietas elaboradas con harinas de origen vegetal que son ricas en proteínas y carbohidratos, está más propenso a almacenar glucógeno y lípidos, lo cual se debe a que se produce una mayor cantidad de aldolasas y flavoproteínas, las cuales aumentan el uso de carbohidratos y el almacenamiento de glucógeno en el músculo e hígado y de lípidos en el músculo y órganos (Horn, 1997; Vilhelmsson *et al.*, 2004).

Evaluación de la condición fisiológica de las tilapias

En la Tabla 4 se presentan los parámetros fisiológicos del músculo de las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales con distintos niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal y control. En ella se puede observar que la concentración de ATP en el músculo de tilapia fue de 0.12 μmol/g, el cual no presentó diferencias significativas (P > 0.05) entre los distintos niveles de sustitución ni el control. Estos valores son superiores a los 0.08 μmol/g encontrados en el músculo de tilapia por Castillo-Yañez *et al.* (2014). Valores similares fueron reportados por Ocaño-Higuera *et al.* (2009, 2011), para cazón

Tabla 4. Parámetros fisiológicos de las tilapias alimentadas con las distintas dietas experimentales y control.**Table 4.** Physiological parameters of tilapia fed with different levels of substitution of animal for plant-derived protein and control.

Parámetros	D _c	D ₀	D ₅₀	D ₁₀₀
ATP (μmol/g)	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a	0.12±0.00 ^a
CEA	0.33±0.02 ^a	0.32±0.02 ^a	0.36±0.02 ^a	0.35±0.02 ^a
Carbohidratos Totales (mg/g)	36.83 ± 2.70 ^a	36.47 ± 8.34 ^a	36.23 ± 7.07 ^a	36.90 ± 5.80 ^a
Glucógeno (mg/g)	5.36 ± 0.05 ^a	5.23 ± 0.12 ^a	5.55 ± 0.19 ^{a,b}	5.73 ± 0.22 ^b
pH	6.78±0.01 ^a	6.77±0.03 ^a	6.79±0.02 ^a	6.81±0.02 ^a

Los valores representan el porcentaje promedio de $n = 3 \pm$ desviación estándar de materia seca. D_c = alimento comercial o control, D₀ = alimento con 0 % de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal, D₅₀ = alimento con 50 % de sustitución, D₁₀₀ = alimento con 100 % de sustitución. Superíndices con diferente letra en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

y mantarraya. La literatura reporta que el ATP disminuye durante las primeras 24 h *posmortem*. Sin embargo, los bajos valores de ATP encontrados en el músculo de tilapia se puede atribuir al consumo de energía durante su cosecha. Normalmente, los valores promedio de ATP en el músculo de los organismos acuáticos que no son sometidos a estrés fluctúa entre 8 y 10 μmol/g de músculo, por consiguiente, el bajo valor obtenido de ATP indicó que posiblemente el ATP pudo haber sido utilizado para contrarrestar el estrés durante su sacrificio en agua-hielo. Sikorski *et al.* (1990) indicaron que el ATP es la fuente de energía más abundante del músculo y que los niveles de este metabolito disminuyen considerablemente como respuesta al estrés generado durante el manejo y transporte de organismos de la pesca.

La CEA es un indicador confiable de la condición fisiológica de los organismos acuícolas. En el presente estudio se encontró que las tilapias alimentadas con los diferentes dietas experimentales y control presentaron valores de CEA entre 0.32 y 0.36, no encontrándose diferencias significativas entre ellos ($P > 0.05$). Los valores de CEA obtenidos fueron menores al 0.76 reportado por Parisi *et al.* (2004) para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Esta diferencia se puede deber a que estos autores sacrificaron a la trucha arcoíris con un golpe en la cabeza inmediatamente después de someterse a narcosis (aturdimiento) con agua y hielo, lo cual produce un mínimo de estrés en los peces en comparación al shock térmico de agua con hielo al que se sometieron las tilapias en el presente estudio.

En la misma Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos para carbohidratos totales. En ella se puede observar que los valores obtenidos oscilaron entre 36.23 y 36.90 mg de glucosa/g de músculo y no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los alimentos experimentales con distinto nivel de sustitución de proteína de origen animal por proteína vegetal y control ($P \geq 0.05$). Estos valores fueron superiores a los 2.2 mg de glucosa/g de músculo encontrados por Manzoor *et al.* (2014) en carpa *Schizothorax esocinus*. Las diferencias en el contenido de carbohidratos totales se pueden deber a variaciones entre las especie, sexo,

tamaño y localización de captura, así como a los factores ambientales (Huss *et al.*, 1999).

Se observó un incremento significativo en el contenido de glucógeno ($P < 0.05$) conforme aumentó el nivel de sustitución de la harina de pescado por la mezcla de harinas vegetales. Los valores se incrementaron de 5.23 a 5.73 mg de glucosa/g de músculo de D₀ a D₁₀₀. Además, se encontraron diferencias significativas con respecto el control ($P < 0.05$). Vilhelmsson *et al.* (2004) reportaron que peces alimentados con harina vegetal tienden a almacenar más carbohidratos, por lo que, a mayor cantidad de carbohidratos en los alimentos mayor es la cantidad de glucógeno almacenado. De Vido de Mattio *et al.* (2001) describieron que el principal constituyente de los carbohidratos totales es el glucógeno, el cual se ha reportado constituye hasta un 93 % dependiendo de la especie. En nuestro estudio se encontró que el contenido de glucógeno representa entre el 14.34 y 15.51 % del contenido total de carbohidratos totales. En base es esto, se infiere que las tilapias del Nilo tienden a almacenar mayor cantidad de glucógeno en el músculo al aumentar la sustitución de harina de pescado por harinas vegetales.

La disminución del pH muscular afecta las propiedades físicas y tecnológicas del músculo (Ashie *et al.*, 1996), como son la textura y capacidad de retención de agua, propiedades que se ven afectadas conforme el pH se acerca al punto isoeléctrico de las proteínas (pH de 5.5). En el caso de los organismos estresados, la literatura indica que los niveles de glucógeno previo a la muerte son bajos y el descenso de pH es mínimo, lo cual favorece el crecimiento bacteriano y acelera el deterioro (Huss, 1999). En la Tabla 4 se presentan los valores promedio de pH en las tilapias alimentadas con los alimentos experimentales elaborados con distintos niveles de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal y control. En ella, se puede observar que los valores oscilaron entre 6.77 y 6.81, los cuales son similares a los reportados por Montoya-Camacho (2013) para tilapia (pH= 6.77± 0.03). Asimismo, estos valores se encuentran dentro del intervalo reportado por Love (1976) (pH=6.70-7.00) para organismos marinos recientemente capturados o cosechados. De igual forma, son similares a los 6.67 descritos por Yamanaka (1989) para el músculo de *Patinopecten yessoensis*. Con respecto al efecto del nivel de sustitución de proteínas de origen animal por proteínas de origen vegetal, no se encontraron cambios significativos entre los alimentos experimentales y el alimento control ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Los niveles de sustitución de proteína de origen animal por proteína de origen vegetal (D₀, D₅₀ y D₁₀₀) evaluados en el presente estudio, afectaron mínimamente los parámetros fisiológicos en el músculo. Por lo tanto, se considera que su utilización, representa una alternativa viable y con gran potencial para reducir costos de producción derivados de la alimentación y sin impactar las características fisiológicas de las tilapias.

REFERENCIAS

- AOAC. 2012. *Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemistry International. Volume II*, (19th edition) / Gaithersburg, Maryland, USA.
- Ajani, E.K., Orisasona, O., Omitoyin, B.O. y Osho, E.F. 2016. Total replacement of fishmeal by soybean meal with or without methionine fortification in the diets of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 11: 238-243.
- Ashie, I.N., Smith J.P. y Simpson, B.K. 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36: 87-121.
- Ayaid, F. Y., Rosentraer, K. A. y Muthukurmarappan, K. 2012. Alternative Protein Source for Aquaculture Feeds. *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*. 4 (1): 1-26.
- Burr, G.S., Wolters, W.R., Barrows, F.T. y Hardy, R.W. 2012. Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 334-337: 110-116.
- Castillo-Yañez, F.J., Jiménez-Ruiz, E.I., Canizales-Rodríguez, D.F., Marquez-Rios, E., Montoya-Camacho, N., Ruiz-Cruz, S. y Ocaño-Higuera, V.M. 2014. Postmortem biochemical changes and evaluation of the freshness in the muscle of tilapia (*Oreochromis niloticus*) during the storage in ice. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 9: 435-445.
- CONAPESCA. 2013. Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura. Anuario Estadístico de Agricultura y Pesca 2013. Recuperado de: <http://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>.
- De Vido de Mattio, N., Paredi, M.E. y Crupkin, M. 2001. Influence of the gonadal cycle and food availability on *postmortem* change in glycogen, ATP, hypoxanthine and 260/250 absorbance ratio in adductor muscle from scallop *Aequipecten tehuelchus* (D' orbigny, 1846). *Journal Shellfish Research*. 20: 111-115.
- Duarte, C.M., Holmer, M., Olsen, Y., Soto, D., Marbà, N., Guiu, J., Black, K. y Karakassis, I. 2009. Will the oceans help feed humanity? *Bioscience*. 59, 11.
- Elangovan, A. y Shim, K.F. 2000. The influence of replacing fish meal partially in the diet with soybean meal on growth and body composition of juvenile tin foil barb (*Barbodes altus*). *Aquaculture*. 189: 133-144.
- FAO. 2012. The state of world fisheries and aquaculture 2012. Rome, Italy. 243 pp.
- FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>.
- González-Félix, M.L., Pérez-Velázquez, M., Villalba-Villalba, A.G., Civera-Cerecedo, R., Ezquerro, J.M. y Goytortúa-Bores, E. 2010. Tailoring a diet for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Culture in Northwest Mexico. *Journal of Marine Science and Technology*. 18 (5): 674-681.
- Horn, M. H. 1997. Feeding and Digestion. In Evans, D. H. (2th ed). *The Physiology of Fishes*. (p. 43-64) Boca Raton, Florida; CRC Press LLC.
- Huss, H. H. 1999. *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/V7180S00/V7180S00.HTM>.
- IFFO. 2006. Fishmeal industry overview. International Fishmeal and Fish Oil Organization. Recuperado de: www.iffco.org.
- Love, R. M. 1976. *Processing Cod: The influence of season and fishing ground*. Aberdeen, Scotland: Torry Research Station.
- Maguire, J. Cashmore, D. y Burnell, G. 1999. The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten mximus* (L). *Aquaculture Research*. 30: 325-333.
- Manzoor, T., Jan, U., Shah, M., Ganie, S.A. 2014. Variation of lipid and carbohydrate content in *Schizothorax esocinus* from Dal Lake of Kashmir Valley. *Pak. J. Biol. Sci.* 17: 447-450.
- Montoya-Camacho, N. 2013. *Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el rigor mortis y la calidad del músculo de tilapia Oreochromis niloticus* (Tesis de Maestría). Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldberg, R.J., Hua, K. y Nichols, P.D. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *PNAS* 106, 36 www.pnas.org/cgi/doi/10.1073.pnas.0905235106.
- Ocaño-Higuera, VM, Maeda-Martínez, AN; Márquez-Ríos, E; Canizales-Rodríguez, DF; Castillo-Yañez, FJ; Ruiz-Bustos, E; Graciano-Verdugo, AZ y Plascencia-Jatomea, M. 2011. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*. 125: 49-54.
- Ocaño-Higuera, V. M., Marquez-Ríos, E., Canizales-Dávila, M., Castillo-Yañez, F. J., Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M.E., García-Orozco, K.D. y Graciano-Verdugo, A.Z. 2009. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*. 116(4): 933-938.
- Olvera-Novoa, M.A., Campos G.S., Sabido G.M. y Palacios, C.A.M. 1990. The use of alfalfa leaf protein concentrates as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 90: 291-302
- Parisi, G., de Francesco, M., Médale, F., Scappini, F., Mecatti, M., Kaushik, S.J. y Poli, B.M. 2004. Effect of total replacement of dietary fish meal by plant protein sources on early *post mortem* changes in the biochemical and physical parameters of rainbow trout. *Veterinary Research Communications*. 28: 237-240
- Racotta, I.S., Ramírez, J.L., Ibarra, A.M., Rodríguez-Jaramillo, M.C., Carreño, D. y Palacios, E. 2003. Growth and gametogenesis in the lion's paw scallop *Nodipecten (Lyropecten subnodosus)*. *Aquaculture*. 217, 335-349.
- Ryder, J. M. 1985. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high performance liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33(4): 678-680.
- Salze, G., Mclean, E., Battle, P.R., Schwarz, M.H. y Craig, S.R. 2010. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 298: 294-299.
- Sikorski, Z. E, Kolakowska, A. y Burt, J. R. 1990. Postharvest biochemical and microbial changes. En: Sikorski, Z. E. (Ed.) *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. (pp. 55-75). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Suárez, J. A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, R., Cadavid, S., García, G., Alanis, G., Suárez, A., Faillace, J. y Cuzon, G. 2009. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. 289: 118-123.
- Vilhelmsson, O.T., Martin, S.A.M., Médale, F., Kaushik, S.J., Houlihan, S.J. 2004. Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*. 92: 71-80.
- Woyewoda, A. D., Shaw, S. J. Ke, P. J., Burns. B. G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences. No.1448. Nova Scotia. Canada.
- Yamanaka, H. 1989. Changes in polyamines and amino acids in scallop adductor muscle during storage. *Journal of Food Science*. 54(5): 1133-1135.