

# **IX. ALIMENTOS EN LARVICULTURA**

# Contenido

**LOCALIZACION, CARACTERIZACION Y EVALUACION DEL POTENCIAL  
EXTRACTIVO DE ARTEMIA EN IBEROAMÉRICA CON DESTINO A LA  
ACUICULTURA PROYECTO CYTED II-A/2. SUBPROGRAMA II: ACUICULTURA 559**

**SITUACION ACTUAL DE LOS ALIMENTOS MICROENCAPSULADOS  
PARA LARVAS DE CRUSTACEOS Y PRESENTACION DE UN PROBLEMA TIPO  
UTILIZANDO POLISACARIDOS COMO AGENTES ENCAPSULANTES ..... 571**

**LOCALIZACION, CARACTERIZACION Y EVALUACION DEL POTENCIAL  
EXTRACTIVO DE ARTEMIA EN IBEROAMÉRICA CON DESTINO A LA  
ACUICULTURA PROYECTO CYTED II-A/2. SUBPROGRAMA II: ACUICULTURA**

*Francisco Amat Domenech*

**Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (CSIC)  
12595 Ribera de Cabanes, Castellón. España**

**RESUMEN**

Las condiciones sociales, climáticas y medioambientales de Iberoamérica en general, atendiendo a su diversidad, se manifiestan muy favorables a un importante desarrollo de la acuicultura, testimoniado actualmente por el protagonismo de la camaricultura en Ecuador, pero que de igual modo puede alcanzarse en piscicultura continental y marina (Chile, Brasil, México). En todas sus facetas, y especialmente en las que se vinculan a procesos de cría larvaria planificada, este desarrollo depende ineludiblemente del suministro de presas como alimento vivo primordial para actividades de hatchery y nursery. Papel esencial juega la disponibilidad de quistes del crustáceo branquiopodo *Artemia*, cuyos nauplios recién nacidos son indispensables en la nutrición larvaria, y cuyas biomásas, silvestres o cultivadas, significan un importantísimo aporte nutritivo en el manejo de postlarvas y juveniles, y en la potenciación de la maduración y reproducción en adultos de especies de peces y crustáceos carnívoros, de aguas dulces y marinas.

A pesar de la aplicabilidad que puedan alcanzar a corto y medio plazo los hipotéticos sustitutos de los nauplios de *Artemia* en larvicultura, en los que se está trabajando en la actualidad (microparticulados), siempre podrá ponerse en tela de juicio su carácter de definitivos, al no poderse equiparar con aquellos nauplios en aspectos tan básicos como:

1. Valor nutritivo intrínseco aceptable, tanto para especies de aguas dulces como marinas, al tratarse de material vivo.
2. Facilidad de manejo y almacenamiento, preservándose su calidad, como característica propia de los quistes, a partir de los que se obtienen los nauplios en granjas.
3. Rapidez de obtención a partir de dichos quistes, uniformidad en la talla de partícula del nauplio recién eclosionado, y facilidad de obtención de individuos de talla progresivamente mayor al someterlos a cultivo en condiciones adecuadas.
4. Facilidad de manipulación ante la conveniencia de variar su valor nutritivo, de acuerdo

a los requerimientos de la larva, mediante metodologías de enriquecimiento o de vehiculación de nutrientes esenciales, factores de crecimiento, profilácticos, etc., aplicables tanto a nauplios como a los diversos estadios de crecimiento o desarrollo.

Se puede aventurar a primera vista un considerable potencial de los países latinoamericanos en la extracción y/o explotación de *Artemia*, en sus biotopos hipersalinos (continentales y litorales), sin embargo, una aproximación mínimamente sería a su cuantificación que está por hacer, por lo que solo se tienen vagos indicios de la situación real, por lo demás confusos y poco fiables. A pesar de ello, se ha llegado a hablar de una disponibilidad próxima a las 20 toneladas de quistes de *Artemia* a partir de datos procedentes solo de cuatro países. Cualquier información referida a sus calidades, en términos generales, viene caracterizada también por su escasa fiabilidad, al no haberse podido someter a un adecuado proceso de estandarización de los métodos de procesado, caracterización, analítica y contrastado de resultados. En resumen, estos son los objetivos del proyecto.

## **INTRODUCCION**

En las últimas tres décadas la acuicultura en Latinoamérica y el Caribe ha alcanzado uno de los mayores ritmos de crecimiento a nivel mundial, de lo que es claro exponente el desarrollo de la industria camaronera de Ecuador, país que en apenas una década consiguió alcanzar el segundo puesto entre los exportadores de camarón cultivado en el mundo, produciendo 250,000 Tm en 100,000 Ha de viveros en el año 1989 (Cámara de Productores de Camarón, 1989).

En 1993 la producción mundial de camarón cultivado alcanzó las 610, 000 Tm. Más del 20 % de ésta producción procedía de granjas camaroneras de América Latina y el Caribe. Aunque se esperaba una clara expansión del mercado de exportación siguiendo las pautas desarrolladas en años anteriores, no se puede negar que la región, con el comprobado potencial que manifiesta en su inicio, podría satisfacer a corto o medio plazo cualesquier cifra de demanda. A estas consideraciones sobre los niveles de realización en la acuicultura camaronera hay que añadir las halagüeñas perspectivas que se presentan en el desarrollo de metodologías de cultivo de especies ícticas, de aguas dulces y marinas, tal como señala Saint Paul (1992), y que ya en la actualidad vienen testimoniadas por los notables avances alcanzados en Chile con el cultivo de salmónidos y peces planos, o mugilidos y cachama en diversos países como Brasil, Colombia, Venezuela, etc. (Hernández, 1989).

Este desarrollo de la acuicultura de especies carnívoras en todo el mundo depende del suministro de alimento vivo, especialmente durante la fase de cultivo larvario y postlarvario. Este alimento vivo ha venido siendo tradicionalmente, desde la década de los años 30, la larva nauplio del crustáceo branquiópodo *Artemia*.

Aunque el uso tradicional de nauplios de *Artemia* como alimento larvario se ha justificado por sí mismo desde los inicios de la acuicultura moderna, en la actualidad se está investigando activamente en la elaboración de microdietas inertes como alternativas posibles al uso de alimentos

vivos (rotífero *Brachionus* y nauplios de *Artemia*) pero los resultados hasta ahora son apenas satisfactorios. Está medianamente claro que en las presas vivas se hallan factores nutritivos y de otro tipo que no pueden incorporarse a las dietas inertes. Así, en la nutrición de larvas de peces tienen enorme peso los estímulos visuales y químicos, unidos o por separado, que provocan en las larvas incrementos en la tasa de ingestión alimenticia superior al 120%. Estos quimioestimulantes, por ejemplo, suelen ser aminoácidos producidos por los propios nauplios de *Artemia*. La combinación de nauplios y microdietas provoca adecuados peristaltismos en el tracto digestivo de las larvas, lo que incrementa la digestión y el aprovechamiento de la dieta inerte.

Similares razonamientos apoyan positivos resultados obtenidos con otros factores nutritivos y digestivos añadidos a microdietas, vehiculadas por, o en presencia de, nauplios de *Artemia*, entre ellos lípidos polares y neutros, vitaminas, diversas enzimas, etc.

La demanda mundial de quistes de *Artemia* ha crecido desde mediados de la década de los 70 a un ritmo del 15% anual, en su inicio, hasta tasas del orden del 40% a finales de los 80, pasando de unas 23 Tm/año en 1975, a unas 400 Tm/año en el bienio 1989-90, con lo que se espera que en esta década pueda superar las 1000 Tm. Hasta recientemente no se notaron excesivos síntomas de escasez. Datos de finales de la década de los 80 sobre stocks en inventario, procedentes de los proveedores que comercializan el recurso en los USA, recurso procedente casi en exclusiva del Great Salt Lake de Utah, lago que produce más del 95% de los quistes presentes en el mercado actual, hablaban de 1000 Tm almace nadas. Sin embargo, la mitad de esta cantidad representa el stock de reserva, o de invernada (envejecimiento del producto para propiciar una mejor eclosión), que siempre mantienen los proveedores en almacén durante un año previamente a su salida al mercado.

Esta situación de abastecimiento a finales de la década de los 80 está cambiando, especialmente debido a la notable demanda de quistes de *Artemia* por parte de países de Asia, desde China y Japón a Filipinas e Indonesia, que están desarrollando enormemente sus prácticas de Acuicultura: China es el primer productor mundial de peces de agua dulce y marina, y el grupo formado por China, Indonesia y Tailandia produce la mayor parte de los crustáceos peneidos presentes en el mercado. Informaciones procedentes de Tailandia, fechadas en febrero de 1995, citan enormes pérdidas económicas en la industria tailandesa del cultivo de camarones, debida a la escasez de *Artemia* para alimentar larvas y postlarvas en instalaciones de cría, circunstancia que ha rebajado a 30% la producción total de postlarvas disponibles para instalaciones de engorde, lo que significa unos 15 billones de postlarvas, aunque el conjunto de las instalaciones tailandesas, de no haber contratiempos mayores, podría producir hasta 40 billones de postlarvas/año.

La gran demanda de Asia, dependiente del mercado internacional occidental hasta hace poco, podría sacar partido de la producción china de *Artemia*. De hecho China exportó quistes de *Artemia* a principios de los años 80, pero con el desarrollo de su acuicultura de camarones, los quistes, y biomasa, de *Artemia* de origen autóctono se emplearon exclusivamente en los semilleros y granjas locales. En aquellos momentos China producía unas 100-200 Tm, de calidad deficiente, pero su urgente necesidad llevó a la elevación de sus precios y a una sobreexplotación del recurso. En 1986 China empezó a importar quistes de USA, pero una

amplia prospección (1993-94) de las salinas costeras chinas ha proporcionado una idea aproximada de su disponibilidad, con lo que se está desarrollando una más efectiva explotación del recurso. Sin embargo, el extraordinario desarrollo de la acuicultura asiática puede copar esta producción y extracción de *Artemia* en China e incidir en la disponibilidad de proveedores de occidente.

Por otro lado, las condiciones actuales de cambio climático más o menos patentes y generales, las específicas de la cuenca del Great Salt Lake, y las condiciones de sobreexplotación a que se ha venido sometiendo a este lago, están mostrando sus efectos, visibles en una progresiva disminución de la productividad del lago, sobre el que se actúa casi indiscriminadamente tras una excesiva concesión de licencias de extracción y explotación. Este conjunto de antecedentes no permiten augurar un futuro tranquilizador ni halagüeño en la disponibilidad de quistes de *Artemia*, que seguirán siendo de calidad diversa y a la baja, y con precios en aumento. Por todo ello los especialistas a nivel internacional coinciden en aventurar que se ofrece como muy atractiva la necesidad de invertir en la exploración y desarrollo de nuevas fuentes de quistes.

Ante todo esto hay que plantear la escasa información que se tiene sobre la disponibilidad del recurso *Artemia* en ecosistemas idóneos para su producción y presencia espontánea en Iberoamérica, concretamente en países como Argentina, Venezuela, Perú, Colombia, México, etc.

Aunque Brasil desempeñó un papel importante en la producción de quistes de *Artemia* y en el mercado mundial, especialmente entre los años 1977 y 1982, con producciones de 15 a 20 Tm anuales de quistes de notable calidad por eclosión, tamaño y valor nutritivo de estos nauplios para larvicultura marina, procedentes de salinas de los estados del Nordeste, especialmente Río Grande do Norte, estas producciones procedían de inoculaciones o introducciones de *Artemia* franciscana original de las salinas de la bahía de San Francisco, California (USA) en salinas en las que no existía *Artemia* con anterioridad. En la actualidad la producción de quistes de *Artemia* por las salinas brasileñas es apenas testimonial, recolectándose unos pocos cientos de kg. por año.

La evolución negativa de este fenómeno de inoculación, producción masiva y caída en poco menos de 10 años en Brasil, se ha intentado explicar de diversos modos, pero ninguno de ellos convincente, dado que las soluciones propuestas no han cambiado su signo. Muy probablemente no se inoculó la cepa adecuada a la climatología del área o al tipo de manejo y explotación de las salinas nordestinas.

Salvo el caso brasileño, no se tiene apenas constancia de una presencia discreta de quistes de *Artemia* originaria de otros países latinoamericanos en el mercado internacional, aunque alguna bibliografía consultada (Aquafuana Bio-Marine. Inc., 1989) cita cifras de quistes en disponibilidad comercial (1989) del orden de 5 Tm en Brasil (que no se corresponden con los datos citados anteriormente), 5 Tm en Argentina, 3 Tm en Perú, y 7 Tm en Colombia. No se puede dar ninguna aproximación actualizada a estas cifras, ni dar cuenta de la presencia de estos quistes en el mercado occidental, salvo la confirmación, por parte de algunos salineros argentinos, de que pequeñas cantidades de quistes de *Artemia* procedentes de sus lagunas y salinas son

recolectadas furtivamente, y comercializadas tras ser sometidas a metodologías de procesado que dejan mucho que desear.

A pesar de todo, se tiene conocimiento de la existencia de importantes cantidades de quistes de *Artemia* en salinas del litoral Atlántico de Venezuela: Las Cumaraguas (Península de Paraguaná), Araya (Península de Araya) (Sánchez y Alvarez, 1994; Sánchez, com. personal). Lo mismo puede decirse de algunas de las pocas salinas-lagunas prospectadas en Argentina (Amat et al, 1994), tal como se comprobó en las orillas de la Laguna Grande de Hidalgo, La Pampa, en el mes de diciembre de 1992. Cabe añadir que la laguna referida, Grande de Hidalgo en la provincia de La Pampa, tiene una extensión de unas 3000 Ha, pero en Argentina, y en diversas provincias, existen otras muchas que deberían ofrecer importantes perspectivas a la explotación de *Artemia*, entre ellas las Salinas Chicas, de 3460 Ha (Buenos Aires), la Colorada Grande, de 6740 Ha (La Pampa), las Salinas Grandes de Ansoategui, de 2700 Ha, y El Gualicho, de 32,800 Ha (Río Negro), las salinas de Bebedero, de 7500 Ha (San Luis), o la propia laguna Mar Chiquita, de 190,000 Ha, en la provincia de Córdoba.

Finalmente cabe aventurar que Latinoamérica tiene un notable futuro como campo de desarrollo para la acuicultura marina y de agua dulce, aunque ha ido a remolque de otras naciones y continentes, como en tantas actividades económicas, en el desarrollo de aquella industria. En la actualidad destaca exclusivamente por la producción camaronesa de Ecuador (4º puesto mundial con algo más de 100,000 Tm/año), actividad que está sufriendo una importante crisis por el llamado “síndrome de Taura”, aún sin definir. Pero a la zaga de Ecuador van Perú, Colombia, Brasil, México, Venezuela, Panamá, Guatemala, Costa Rica, etc., en el cultivo del camarón. También empiezan a darse importantes cifras en la producción de peces marinos, como es el caso de Chile, que aspira a producir del orden de 500,000 alevines de rodaballo, tras el éxito obtenido en la industria de cría del salmón. En otros países se vislumbra seriamente la producción de diversas especies de peces, entre ellas peces planos y seriola (huayaípe), como es el caso de Ecuador, o el desarrollo del cultivo de mujol, mero, y otros peces planos en Brasil, o el cultivo de lenguado, cabrilla y pargo en Chile y México, pero en todo caso habría que propiciar el estudio con fines acuícolas de especies autóctonas (cabe pensar en el enorme banco de especies desconocidas —biodiversidad amenazada— que constituye la Amazonia), y no la introducción de especies y metodologías (plantas “llave en mano”) extranjeras, como se ha hecho en Chile.

## **PARTICIPANTES**

### **Argentina**

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

- Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.

### **Brasil**

- Departamento de Oceanografía y Limnología.
- Universidad Federal de Rio Grande do Norte, Natal, R.N.
- Laboratorio de Camarones Marinos.

Departamento de Acuicultura.

Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, S.C.

### **Cuba**

- Centro de Investigaciones Marinas.  
Universidad de La Habana. Miramar, La Habana
- Centro de Investigaciones Pesqueras.  
Universidad de La Habana. Barlovento, La Habana
- Complejo de Camaronicultura de Camaguey. Santa Cruz del Sur,  
Camaguey

#### Chile

- Universidad de Los Lagos, Osorno, Chile
- Departamento de Acuicultura. Facultad de Recursos del Mar.  
Universidad de Antofagasta. Antofagasta.

#### España

- Instituto de Acuicultura de Torre de La Sal (CSIC).
- Ribera de Cabanes. Castellón.

#### México

- Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco.  
México, D.F.
- Instituto de Investigaciones Oceanológicas.  
Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada. Baja California N.
- Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR).  
La Paz. Baja California S.

#### Perú

- Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Museo de Historia  
Natural. Lima.
- Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES). Lima y Piura.

#### Portugal

- Instituto de Zoología “Dr. Augusto Nobre”. Facultad de Ciencias.  
Universidad de Oporto. Oporto.
- Instituto Nacional de Investigación de las Pescas. CRIPAL. Garve. Olhao
- Laboratorio Marítimo da Guia. Facultad de Ciencias.  
Universidad de Lisboa. Lisboa.
- Instituto Nacional de Investigación de las Pescas y del Mar (IPIMAR).  
Lisboa

#### Venezuela

- Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda”.  
Coro, Falcón.

## **OBJETIVOS**

En el desarrollo de este proyecto de coordinación se aspira a que la diversidad de países y de equipos que puedan estar interesados en su participación sea amplia, por lo que se plantea una descripción detallada de objetivos a su vez amplia, manifiesta con las preferencias concretas de acuerdo a las prioridades propias de cada país o equipo, y condicionados por la disponibilidad en infraestructura y metodologías en cada caso. Por tanto, una vez manifestadas aquellas preferencias tras una previa labor de prospección, se sometió a los participantes la consecución de los siguientes objetivos:

### **A) LOCALIZACION Y CARACTERIZACION DE POBLACIONES DEL**



## **GÉNERO *Artemia* EN LATINOAMERICA**

- a.1). Prospección de ecosistemas hipersalinos: salinas solares, pozas costeras, lagunas y lagos (litorales e interiores), salares, etc.
- a.2). Caracterización físico-química de las salmueras de los ecosistemas con presencia de poblaciones de *Artemia*. Correlaciones entre temperatura, pH, salinidad y composición iónica, esencialmente en ecosistemas continentales asociados a geología singular (salarés).
- a.3). Caracterización cualitativa y cuantitativa de producción primaria. Análisis de especies fitoplanctónicas presentes. Cuantificación de producción primaria. Niveles de nutrientes, clorofilas y otros pigmentos.
- a.4). Composición poblacional en muestras silvestres de *Artemia*. Proporción de seguridad. Tipo de reproducción. Cuantificación de población adulta reproductiva. Fecundidad ovípara y ovovivípara. Aproximación a producción secundaria. Biomásas. Prospección dirigida a la evaluación del recurso quistes de *Artemia*. Presencia en las salmueras y en las orillas de los cuerpos de agua. Valoración referida a volumen de salmuera, o a superficie (y espesor) de acumulaciones en las orillas.
- a.5). Caracterización biométrica de las poblaciones. Diámetro de quistes. Talla de nauplios. Morfometría de individuos adultos. Tipos de reproducción dominante y fecundidad. Establecimiento de un banco de muestras de quistes de poblaciones de *Artemia* de Latinoamérica.
- a.6). Caracterización fenotípica mediante parámetros reproductivos y de duración de vida. Correlación entre estos parámetros y distintas condiciones medioambientales, en poblaciones silvestres y en cultivo.
- a.7). Caracterización genotípica (I). Estudios citogenéticos para el establecimiento de ploidías, aneuploidías, bandedo cromosómico, número de cromocentros, etc.
- a.8). Caracterización genotípica (II). Estudios electroforéticos de isozimas. Polimorfismo genético, variaciones de heterozigosidad, frecuencias alélicas, diversidad genética. Estudios de biología molecular sobre secuenciación de ADNm.
- a.9). Caracterización genética complementaria basada en el establecimiento de cruzamientos inter e intrapoblacionales en laboratorio. Obtención de poblaciones híbridas fértiles. Caracterización. Discriminaciones en apareamientos y evidencia de barreras genéticas reproductivas.

Estas tareas de caracterización genotípica y fenotípica deberían facilitar la confirmación de existencia de solo dos especies del género *Artemia* en Latinoamérica:

A. franciscana como especie mayoritaria, y A. persimilis como especie exclusiva de Argentina.

Esta situación está plenamente aceptada por los especialistas, sin embargo se desconoce la verdadera distribución geográfica de *A. persimilis* o, mejor dicho, no está plenamente establecido que en Argentina se hallen poblaciones exclusivamente formadas por *A. persimilis*, situación que solo se puede afirmar para las provincias de Buenos Aires y La Pampa, dado que en regiones argentinas próximas a Chile, o Bolivia, por ejemplo en las provincias de Jujuy, Salta o Catamarca, podría darse la presencia de poblaciones de *A. franciscana* en lagos y lagunas saladas, o en explotaciones salineras, por introducción debida a migraciones de aves (flamencos) desde Chile, donde solo hemos encontrado poblaciones de *A. franciscana* (Salares de Llamara, Atacama y Surire). A su vez, se desconoce la biogeografía del género *Artemia* en Bolivia, en cuyos salares, colindantes con Chile y Argentina, se ha citado la presencia de poblaciones silvestres.

Estas investigaciones permitirían, a su vez, obtener más información sobre la superespecie *A. franciscana*, dado que todas las poblaciones localizadas deben representar un grupo monofilético de poblaciones alopátricas que pueden incluir especies gemelas (sibling species), especies nuevas incipientes (semiespecies) y subespecies. Resultados obtenidos en cruzamientos de laboratorio entre poblaciones de *A. franciscana* procedentes de Chile (Atacama) y Perú (Piura), señalan la posible presencia de incipientes aislamientos reproductivos.

## **B) CARACTERIZACION DIRIGIDA A LA APLICABILIDAD PRACTICA DEL RECURSO NATURAL *Artemia* EN LABORES DE ACUICULTURA.**

### **b.1) CALIDAD DE QUISTES. RECOLECCION, PROCESADO Y ALMACENAMIENTO DE QUISTES DE *Artemia*.**

Control de eclosión, eficiencias, tiempos, sincronía, respuesta a tratamientos potenciadores de la eclosión, etc., en relación a origen geográfico, química de las salmueras, procesado, etc.

- b.2) Calidad de nauplios. Determinación de tallas naupliares, como primer criterio de aceptabilidad para su empleo en larvicultura. Composición bioquímica de nauplios en principios bioquímicos inmediatos, especialmente lípidos totales, clases de lípidos, ácidos grasos. En su caso, desarrollo y aplicación de distintos tipos de enriquecimiento, y comprobación de su eficiencia en larvicultura.
- b.3) Calidad en biomasa. Determinación de velocidad y tasas de crecimiento en poblaciones experimentales. Composición bioquímica en principios nutritivos inmediatos y esenciales, en poblaciones silvestres y en cultivo. Aplicabilidad en acuicultura: Nutrición complementaria anti-stress, potenciación de la maduración y fertilidad en reproductores (camarones), etc.
- b.4) Selección de poblaciones autóctonas. Dirigida a potenciar cultivos en salinas o en laboratorio, en relación a tipos de reproducción preferente, tamaño y calidad de quistes y nauplios, termopreferendums. Manejo y explotación de tanques en salinas. Fertilización. Obtención masiva de quistes y biomasa de calidad. Control de predadores de *Artemia*.
- b.5) Aplicación zootecnica experimental. Desarrollo de métodos comunes, y contrastados entre

diferentes laboratorios y países, dirigidos a la comprobación de la calidad de nauplios de Artemia de distinto origen en prácticas de larvicultura de peces y crustáceos marinos.

Estandarización de métodos para la determinación de tasas de supervivencia, crecimiento, pruebas de vitalidad en larvas y postlarvas. Análisis bioquímicos. Coordinación con prioridades establecidas por especialistas de otros subprogramas de implantación en Iberoamérica: Cultivos de crustáceos peneidos, peces, etc.

## **ACTIVIDADES**

De acuerdo con la Definición y Gestión de los Proyectos de Investigación Precompetitiva del Programa CYTED, durante el año 1996, primero de vigencia de este proyecto, se han llevado a cabo tres reuniones internacionales:

- Reunión Hispano-Portuguesa, en Oporto (Portugal), del 17 al 19 de enero de 1996 (España-Portugal).
- Primera Reunión Iberoamericana, en San José de Costa Rica, del 22 al 27 de marzo de 1996. (España, Portugal, Cuba, México, Perú, Venezuela).
- Segunda Reunión Iberoamericana, en Barra da Lagoa, Florianópolis, S.C. Brasil, del 31 de julio al 2 de agosto de 1996. (España, Brasil, Chile, Argentina).

Los temas más ampliamente tratados en estas reuniones, de acuerdo con los objetivos prioritarios establecidos, fueron:

### **1. PROSPECCION:**

Se han inventariado unas 110 localizaciones de biotopos con presencia de poblaciones de Artemia, de las que 47 corresponden a la Península Ibérica, y 63 a Iberoamérica: Colombia, 3; México, 15; Cuba, 3; Venezuela, 5; Perú, 22; Chile, 7; Argentina, 4; Brasil, 4.

Una atención más amplia a esta actividad podría aportar un incremento del 50% en localizaciones efectivas, considerando especialmente las perspectivas ofrecidas por Argentina, Brasil, México y Perú.

### **2. CARACTERIZACION FISICO-QUIMICA DE BIOTOPOS HIPERSALINOS:**

Solo se ha desarrollado un amplio estudio de estas disciplinas en las salinas de Aveiro, Portugal.

### **3. CARACTERIZACION FENOTOPICA Y GENOTOPICA DE POBLACIONES DE ARTEMIA:**

Tras la localización de una población de Artemia, es práctica habitual y general proceder al estudio de sus parámetros biométricos referidos a diámetro de quistes y talla de nauplios, así como de algunos parámetros morfométricos de especímenes adultos, y tasas de crecimiento en laboratorio.

Desde un punto de vista genotípico se han caracterizado algunas poblaciones a partir de

estudios electroforéticos de proteínas, contajes cromosómicos, y cruzamientos interpoblacionales.

#### **4. USO DE *Artemia* AUTOCTONA EN ACUICULTURA:**

##### **4.1. QUISTES-NAUPLIOS**

Se tiene constancia del empleo de quistes de poblaciones autóctonas en la obtención de nauplios destinados a prácticas de acuicultura (larvicultura) en:

México:	Quistes de Sonora, Sinaloa, Yucatán
Perú:	Quistes de Virrilá
Cuba:	Quistes de Frank País
Venezuela:	Quistes de Las Cumaraguas y Araya
Brasil:	Quistes de Macau, Grossos, Areia Branca (R.N.)
España:	Quistes de La Mata (experimental) (Línea emergente de investigación en Ecotoxicología acuática)

##### **4.2. BIOMASA**

Brasil: Biomosas procedentes de las salinas de R.N. son habitualmente usadas en Brasil y exportadas.

México:	Biomasa de Sosa-Textcoco, México, D.F. (Acuariofilia)
Perú:	Biomasa de Chilca (Acuariofilia).

Habitualmente se emplean quistes de *Artemia* procedentes del Great Salt Lake de Utah (USA) en los proyectos de acuicultura que precisan de prácticas de larvicultura.

##### **4.3. MANIPULACION DE QUISTES, NAUPLIOS Y BIOMASA:**

Los centros de investigación vinculados a proyectos de nutrición larvaria siguen desarrollando temas relacionados con el enriquecimiento lipídico (PUFA) en presas vivas.

España	Emulsiones y liposomas
México-Cuba	Emulsiones y microcapsulados
Chile (Bélgica)	Emulsiones y microcapsulados
Brasil	Emulsiones, bioencapsulados.

#### **COMPROMISOS**

La dispersión de objetivos, prioridades y metodologías que se manifiestan en estas reuniones de coordinación, sugieren la necesidad de consensar la concentración en fines de interés común, y en el empleo de metodologías y técnicas contrastadas. Por ello se han establecido los siguientes compromisos:

- Elaborar protocolos de metodologías estandarizadas y actualizadas en la analítica fiable de parámetros químicos esenciales en salmueras y sedimentos de biotopos hipersalinos,

(Vieira, 1989).

- Establecer un banco de quistes de poblaciones de Artemia del ámbito Iberoamericano. Sedes: UNAM - México, IATS - Castellón, España.
- Elaborar un catálogo de todas las poblaciones de Artemia halladas en el ámbito Iberoamericano, especificando su localización geográfica, y un discreto número de parámetros fenotípicos identificadores de la población (Amat et al., 1991).
- Generalización del uso del análisis discriminante multivariante en el estudio de la morfología de especímenes adultos de todas las poblaciones de Artemia, mantenidas en laboratorio bajo condiciones de cultivo standard (Hontoria & Amat, 1992a, b).
- Intercambiar protocolos de metodologías actualizadas en la analítica de lípidos y ácidos grasos, y en el enriquecimiento de presas vivas en lavicultura (Navarro et al, 1992; 1995)
- Elaborar un protocolo sobre el uso de la técnica de electroforesis en el estudio de sistemas enzimáticos habituales en las poblaciones de Artemia. (Gajardo et al, 1995; Pedrosa da Rocha Lobo, 1995).
- Desarrollar acciones dirigidas a mejorar las condiciones de explotación, mejora de calidad, producción y disponibilidad de quistes de Artemia procedentes del Nordeste brasileño.
- Desarrollo de proyectos de investigación sobre obtención de biomasas de Artemia, y su estudio nutritivo y fisiológico-hormonal, dirigidas a una eficiente aplicación en larvicultura y maduración de reproductores de crustáceos peneidos.
- Distribución de recopilaciones bibliográficas de los trabajos publicados por los equipos participantes en el proyecto.

## **BIBLIOGRAFIA CITADA**

- Amat, F, F.Hontoria, J.C. Navarro, A. Gozalbe, I.Varó. 1991. Bioecología de Artemia en la laguna de La Mata. Col. Técnica. Publ. Inst. Cultura "Juan Gil Albert". Alicante, España. 176 pp.
- Amat, F, F.Hontoria, J.C. Navarro, R.G. Cohen y S. Rodríguez. 1994. Aproximación preliminar a la distribución del género Artemia en Argentina. Provincias de Buenos Aires y La Pampa. Actas VIII Congreso Latinoamericano de Acuicultura, Bogotá (Colombia). Colciencias: 73-82.
- Cámara de Productores de Camarón. 1989. Libro Blanco del camarón. Ecuagraf, S.A. Guayaquil, Ecuador. 79 pp.

- Gajardo, G, M.Conceição, L.Weber and J. Beardmore. 1995. Genetic variability and interpopulational differentiation of *Artemia* strains from South America. *Hydrobiología*. 302: 21-29.
- Hernández, A. 1989. Cultivo de *Colossoma*. A.Hernández (Ed.). Red regional de entidades y centros de acuicultura de América Latina. Bogotá, Colombia: 475 pp.
- Hontoria, F. and F.Amat. 1992a. Morphological characterization of adult *Artemia* from different geographical origin. Mediterranean populations. *J. Plankt. Res.* 14 (7): 949-959.
- Hontoria, F. and F.Amat. 1992b. Morphological characterization of adult *Artemia* from different geographical origin. American populations. *J. Plankt. Res.* 14 (10): 1461-1471.
- Navarro, J.C., F.Amat and J.R.Sargent. 1992. Lipid composition of cysts of the brine shrimp *Artemia* sp. from Spanish populations. *J. Exp. Mar. Biol. & Ecol.*, 155: 123-141.
- Navarro, J.C., L.A. McEvoy, F.Amat and J.R. Sargent. 1995. Effects of diet on the fatty acid composition of body zones in sea bass *Dicentrarchus labrax* L. larvae: a chemometric study. *Mar. Biol.* 124: 177-183.
- Pedrosa da Rocha Lobo, M.C. 1995. Caracterização genética de duas populações de *Artemia*. Tesis de Mestrado em Ecologia Aplicada. Fac. Ciências. Univ. do Porto, Portugal: 74 pp.
- Saint Paul, B. 1992. Status of aquaculture in Latin America. *J. Appl. Ichtyol.*,8: 21-39.
- Sánchez, M.R. y Z.Alvarez. 1994. Evaluación nutricional de nauplios de la cepa de *Artemia* Las Cumaraguas-Venezuela como alimento para larvas de *Penaeus vannamei*. Actas VIII Congreso Latinoamericano de Acuicultura, Bogotá (Colombia), Colciencias.
- Vieira, N. 1989. Contribuição para o conhecimento da biologia de *Artemia* sp. proveniente das salinas de Aveiro. Sua importancia em aquacultura e na dinamica daquele ecossistema. Dissertação de Doutoramento apresentada a Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 324 pp.

## **SITUACIÓN ACTUAL DE LOS ALIMENTOS MICROENCAPSULADOS PARA LARVAS DE CRUSTACEOS Y PRESENTACIÓN DE UN PROBLEMA TIPO UTILIZANDO POLISACÁRIDOS COMO AGENTES ENCAPSULANTES**

*Ruth Pedroza Islas<sup>1</sup>, E.J. Vernon Carter,<sup>2</sup>  
M.C. Durán de Bazúa<sup>3</sup> y M.P. Chávez-Martínez<sup>1</sup>*

**<sup>1</sup> DCNA-DCI Universidad Iberoamericana, 01210 México, D.F. y<sup>2</sup>  
DIPH Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, 09340 México, D.F.<sup>3</sup>  
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México**

### **RESUMEN**

De manera general, el cultivo de las fases larvarias de los crustáceos se ha basado en alimento vivo (fitoplancton y *Artemia* sp). Sin embargo, la producción de dicho alimento requiere de manejos especializados. Así mismo, involucra dificultades de escalamiento y no siempre es posible obtener una calidad uniforme. La tendencia actual es hacia la búsqueda de sustitutos de alimentos vivos por alimentos inertes tales como dietas artificiales microparticuladas o microencapsuladas.

Puede afirmarse que las partículas artificiales son aceptables para una variedad amplia de organismos marinos, siempre y cuando estas partículas constituyentes de la dieta se encuentren finamente divididas, para que puedan ser ingeridas por los organismos y que no se disuelvan, para evitar contaminación bacteriana y que se dispersen adecuadamente en el seno del líquido a fin de estar al alcance de los organismos que las vayan a consumir.

Así pues, una tecnología que contribuye a satisfacer los puntos anteriores es la microencapsulación, considerando que las funciones de la microencapsulación son: protección de deterioros por efecto del oxígeno, control de la transferencia de humedad, control sobre la liberación del material microencapsulado y protección contra la contaminación.

Se presenta un análisis sobre la evolución de las dietas microencapsuladas para larvas de camarón, así como de las tecnologías empleadas.

Por otra parte, se presenta una propuesta, donde los agentes encapsulantes para una dieta de *P. schmitti*, son polisacáridos naturales como la goma arábiga, la goma de mezquite y una

maltodextrina 10DE. Lo anterior se basa en la hipótesis de que tanto la formación de la pared así como las características generales de las microcápsulas, son puntos críticos para tener un alimento eficiente.

Se evaluaron mezclas diferentes de los agentes microencapsulantes, con dos relaciones de agente encapsulante/dieta (2:1 y 3:1) y dos valores de pH (4 y 8).

Como variables de respuesta se evaluaron el tamaño promedio volumétrico de partícula, la morfología (aspecto general y textura), tasa de disolución en agua y dispersabilidad en el seno del líquido.

La disolución se ve afectada por la concentración de goma de mezquite y el pH de trabajo. La disolución mínima se obtuvo cuando la formulación contenía 33% de goma de mezquite.

La mejor dispersibilidad se tuvo cuando la goma de mezquite estaba presente en la mezcla en un 50%, a pH de 4 y una relación encapsulante/dieta de 2:1.

El tamaño de partícula se vio afectado significativamente por la concentración de goma arábica y por el pH de 8. En morfología y ausencia de defectos, destacaron las microcápsulas elaboradas a pH 4. A pH de 8 se obtuvieron buenas microcápsulas específicamente las de goma arábica-mezquite y las que contenían 66% de mezquite, 17% de goma arábica y 17% de maltodextrina 10DE.

Palabras clave: dietas microencapsuladas, larvas de crustáceos, polímeros naturales

## **INTRODUCCIÓN**

Existe una problemática generalizada en la formulación y evaluación de proyectos, tanto de langostino como de camarón, que se refiere a los niveles de producción que se quieren obtener sobre todo en el primer ciclo o etapa larvaria, donde se tiene un periodo de inducción o retardo que dificulta la producción posterior.

De manera general, el cultivo en las fases larvarias, se ha basado en alimento planctónico vivo, tal como diatomeas y *Artemia salina*. Las dificultades que implica el escalamiento para la producción de diatomeas, han conducido a la búsqueda y propuesta de otro tipo de alimentos tales como algas conservadas, levaduras y en algunos casos, hasta pasta de soya, sobre todo cuando se presenta escasez de alimento (Piedad-Pascual y Sumalangcay, 1990; Lim y Dominy, 1990).

El uso de *Artemia*, tiene la desventaja de un alto costo y variaciones ocasionales en la calidad (Jones et. al., 1984; Villamar y Brusca, 1987). No obstante, debe mencionarse que hay varios informes que señalan que cuando se alimentan larvas con dietas deficientes en *Artemia* hay una reducción en la sobrevivencia y/o en la tasa de crecimiento (Villamar y Brusca, 1987). Como alternativa económica, se ha ensayado en la producción comercial de rotíferos (Villegas y Kanazawa, 1980) y actualmente, la tendencia es hacia la búsqueda de sustitutos de alimentos vivos por alimentos inertes tales como dietas artificiales microparticuladas o microencapsuladas (Flores, 1988; Kanazawa y Teshima, 1988).



De manera general puede decirse que las partículas artificiales son aceptables para una variedad amplia de organismos marinos. Sin embargo, las dietas suministradas como partículas divididas finamente por ejemplo de huevo cocido o pescado picado o absorbidas en la superficie de las partículas, invariablemente se dispersan en el medio acuoso provocando la contaminación bacteriana.

Entonces, surgen como una opción los alimentos microencapsulados a partir de una tecnología desarrollada por primera vez en el Reino Unido de la Gran Bretaña. Sin embargo, la situación no ha sido sencilla, sobre todo si se considera que la pared que forma la microcápsula, debe ser lo suficientemente delgada para asegurar que en el trayecto del alimento por el tubo digestivo de las larvas en estado de protozoa, el cual dura de 7 a 12 minutos, éste sea aprovechado.

Con la microencapsulación se pretende atender las necesidades de desarrollo de tecnologías que eliminen o disminuyan las dificultades que representa la alimentación de la fase larvaria, considerando que las funciones de la microencapsulación son: protección de deterioros por efecto del oxígeno y otros gases, control de la transmisión de humedad, manejo de materiales líquidos y sólidos, control sobre la liberación del material microencapsulado y protección contra la contaminación microbiana.

Sin embargo, ya existe la elaboración comercial de alimentos microencapsulados, cuyo precio en nuestro país es muy elevado. Cabe mencionar que, aparte de tratarse de una tecnología patentada, aún no ha llegado a un grado de refinamiento tal que se pueda sustituir al alimento planctónico (Chamberlain, 1988; Cruz y Ortega, 1989).

El uso de las técnicas de microencapsulación para la elaboración de las dietas para larvas acuáticas ha sido defendida por Meyers (1973). El tipo de cápsulas que se requiere depende del método de alimentación. Tanto para larvas como para los adultos, las cápsulas deben ser rotas mecánicamente para permitir que el contenido sea ingerido o bien ser susceptibles de hidrólisis enzimática.

Jones y Gabbott (1976) experimentaron una dieta consistente de una solución acuosa de 5% de almidón soluble y 10% de hemoglobina y las cápsulas fueron preparadas con una pared de nylon-proteína, adicionando ácido diamino-difenil-disulfónico para proporcionar a la membrana una carga negativa la cual reduce la agregación de las cápsulas, y para incrementar la fragilidad de la membrana de tal manera que sea más fácilmente rota durante la alimentación. La desventaja de las cápsulas de nylon-proteína es que la pared de la cápsula es permeable a moléculas pequeñas, de tal forma que sólo los componentes macromoleculares de la dieta pueden estar contenidos en la microcápsula.

Möller et. al. (en Jones et.al., 1979) describieron experimentos en los cuales las larvas mysis de *P. merguensis* fueron desarrolladas hasta postlarvas PL-2 con una dieta microencapsulada, lo mismo que zoeas Z-1 de *P. japonicus*, hasta PL-1.

Jones et. al. (1979) produjeron dietas microencapsuladas y microparticuladas utilizando, para la microencapsulación, la polimerización interfacial, teniendo mucho cuidado en eliminar

todos los materiales tóxicos de las microcápsulas, enjuagándolas perfectamente con agua. Experimentaron con larvas de *P. japonicus* y encontraron que podría lograrse una sobrevivencia de hasta 68%.

Evaluaron diferentes tamaños de microcápsulas informando que para el estado zoea, 10 micrómetros era el adecuado, mientras que para mysis podría tenerse un tamaño mayor (28 mm).

Kanazawa et al. (1982) elaboraron microcápsulas por medio de polimerización cruzada entre nylon y proteína para alimentar larvas de *Chrysophrys major* y *Plecoglossus altivelis* e informaron que las larvas no pudieron digerir las microcápsulas.

Teshima et al. (1982) reconocen también, que el cultivo de alimento vivo requiere de mano de obra excesiva y equipos costosos e involucra fluctuaciones en calidad por lo que destaca la necesidad de producir alimentos artificiales. Señalan que las dietas para larvas deberían ser partículas pequeñas (5-300  $\mu$ m de diámetro) y ser estables en agua durante un tiempo considerable hasta que las larvas las consuman, con ingredientes bien balanceados y digeribles en el tracto intestinal. Más aún, el tamaño de partícula y la gravedad específica de las dietas deben modificarse de acuerdo al estadio de crecimiento. Prepararon dietas microencapsuladas (DME), microligadas (DML), dietas en polvo con un agente ligante, dietas microcubiertas (DMC) elaboradas a partir de las microligadas y recubiertas con algún material como zeína y colesterol.

Como método de microencapsulación utilizaron la polimerización interfacial (cloruro de sabacoilo con los grupos amino de las proteínas de la dieta) siguiendo lo propuesto por Chang et al. (1966) y Jones et al. (1976, 1979).

La preparación de las dietas microligadas se realizó liofilizando o secando en estufa los ingredientes de la dieta, mezclados con el ligante. Se molieron hasta tener partículas del tamaño adecuado. Los ligantes fueron agar, gelatina, poliacrilato de sodio y carragenina.

Las dietas microcubiertas se prepararon utilizando huevo, colesterol-lecitina o zeína. Se partió de una dieta microligada la cual fue mezclada con el agente de recubrimiento y posteriormente secada a presión reducida. En los dos procesos últimos se utilizaron solventes orgánicos los cuales debieron ser eliminados perfectamente.

Como conclusión resalta que los mejores resultados se obtuvieron alimentando a las larvas combinando dietas artificiales con alimento vivo y que las mejores dietas fueron cuando se usó carragenina como ligante o cuando se encapsuló con nylon-proteína o bien la dieta microcubierta con zeína.

Kanazawa et al. (1982) evaluaron 11 dietas microparticuladas; microcápsulas de nylon-proteína y de membrana de zeína. Reconocieron también las dificultades que involucra la producción de alimento vivo. Mencionan que los ingredientes de la dieta fueron reducidos a un tamaño de partícula de entre 10 y 20  $\mu$ m. El sistema de microencapsulación utilizado fue el de polimerización interfacial.

Alimentaron larvas de *P. japonicus* utilizando las diferentes dietas microparticuladas y obtuvieron sobrevivencias de 0 hasta 95 días. Sobresalió una dieta de nylon-proteína (tamaño de partícula de 50 a 100 mm alcanzando el estadio de PL8 (8 días) con 78% de sobrevivencia y la dieta de cubierta de zeína (tamaño de partícula de 10 a 50 mm) logrando desarrollar a las larvas hasta PL8 (8 días) con 94% de sobrevivencia. Las larvas alimentadas con alimento vivo (*Chaetosceros*, *Artemia*), tuvieron 95% de sobrevivencia (PL7, 7 días).

Estos autores hacen un señalamiento importante con respecto a la estabilidad de las dietas en agua y mencionan que las dietas artificiales no cubiertas tienen una estabilidad baja lo cual puede mejorarse, encapsulando las partículas con polímeros naturales tales como la gelatina y la zeína (estabilidad 74-79%). Concluyen que las larvas de crustáceos aceptan las partículas alimenticias artificiales y que pueden desarrollarse con este tipo de alimentos.

La importancia del tamaño del alimento en el cultivo de larvas y postlarvas de camarón, también ha sido estudiado por otros investigadores, quienes señalan que, para el caso de larvas ZI, ZII y ZIII, los tamaños de partícula alimenticia que los organismos prefirieron están entre 9.5 y 20.5 mm; para MI, entre 10.4 y 22.7; para MII y MIII, entre 15.1 y 28.2 y en el caso de PL1, entre 16.6 y 38.1 (Cruz y Ortega, 1989). Para postlarvas avanzadas, Jaime y García (1990), recomiendan que el tamaño del alimento esté dentro de los intervalos siguientes: para postlarvas con pesos entre 45 y 116 mg, tamaños de partícula de 0.35 a 0.80 mm; postlarvas de entre 116 y 153 mg, el alimento debe medir entre 0.80 y 1.0 mm.

Langdon et al. (1985) revisaron los procesos de elaboración de dietas artificiales. Los métodos de microencapsulación enlistados fueron: coacervación, polimerización interfacial y cápsulas de lípidos y mencionan al secado por aspersión y a la liofilización.

Señalan que no importa cual sea el proceso de fabricación, las dietas deben cubrir los criterios siguientes: 1) aceptabilidad, es decir, las partículas deben tener el tamaño adecuado, disponibilidad en el agua a una densidad similar a la de los alimentos vivos e ingeridas a una tasa similar; 2) estabilidad, las dietas formuladas deben permanecer estables con la mínima pérdida por lavado y ser rotas hasta que se ingieran; 3) digestibilidad, las dietas deben ser digeribles y asimilables; 4) contenido nutricional similar a los organismos vivos y 5) almacenamiento con cualidades adecuadas (12 meses)

Levine et al. afirman que el tipo de cápsulas más promisorias para el estudio de los requerimientos de las larvas de decápodos corresponde a las de alginato de calcio y consideran que este tipo de microcápsulas son superiores a las de nylon-proteína. Señalan que entre las ventajas más importantes están la versatilidad del tipo de material que puede ser encapsulado, costos de preparación más bajos y menos tiempo de elaboración (en Villamar y Brusca, 1987). Levine define como una dieta microencapsulada ideal, a aquella que no sea tóxica, digerible, impermeable o permeable selectivamente para liberar solamente los elementos atrayentes (en Castell y Kean eds, 1986).

De la información presentada, puede observarse claramente que el proceso de microencapsulación más utilizado ha sido la polimerización, mientras que el secado por aspersión se ha utilizado sólo para deshidratar algas.

Aunque no para crustáceos, pero con información indicativa, considerable para crustáceos, Walford y Lam (1987) encontraron que la alimentación secundaria de larvas de peces con microcápsulas que contenían un porcentaje alto de lípidos era una alternativa eficiente para alimentar con *Chlorella* sp u otro tipo de alga, teniendo como propósito incrementar el contenido de ácidos grasos esenciales de los alimentos vivos y aún más, consideraron que el cultivo de alimentos vivos podría no ser necesario si se alimentaban a las larvas directamente con las microcápsulas. Señalan también que los tres problemas principales para alimentar a las larvas de peces con microcápsulas son: a) el mantener las microcápsulas en suspensión en los tanques de cultivo conservando densidades suficientemente altas y que el movimiento sea suficientemente lento para que las larvas puedan capturar las microcápsulas fácilmente, b) hacer que las microcápsulas sean atractivas para que sean ingeridas y no las escupan, y c) asegurar que después de la ingestión, la membrana que forma la pared de la microcápsula se rompa en el tracto digestivo de tal manera que los ingredientes de la dieta sean liberados para su digestión y asimilación.

Estos mismos autores ante la interrogante de si las microcápsulas eran realmente digeridas por las larvas de los peces marinos, investigaron si las microcápsulas producidas comercialmente para larvas de crustáceos eran ingeridas y digeridas. Utilizaron una técnica de coloración de las dietas microencapsuladas con un colorante fluorescente y después de suministrar ese alimento a las larvas observaron al microscopio, ya que las larvas permanecen transparentes aproximadamente 10 días. Evaluaron también diferentes tamaños de alimento en un intervalo de 15 a 150  $\mu$ m y en una de las dietas suministraron adicionalmente rotíferos. Diez días después de iniciado el experimento no hubo sobrevivencia de las larvas alimentadas con microcápsulas exclusivamente y a las que se les suministró la dieta combinada de microcápsulas y rotíferos, mostraron una sobrevivencia de 2.4% a los 14 días de experimentación. Encontraron también que las larvas ingerían mejor las microcápsulas de entre 40 y 60  $\mu$ m de diámetro. Midiéron el tiempo de residencia de las microcápsulas dentro del tracto intestinal que fue en promedio de 11 minutos y observaron que ellas se movían en el intestino de la larva debido a los movimientos peristálticos normales y que al final eran excretadas en las heces sin sufrir alteración. Es decir, que la membrana de proteína no era rota. Sólo en la dieta asociada con rotíferos hubo alguna evidencia de rotura de la pared microcapsular y de absorción, sugiriendo que la presencia de un alimento vivo generó la actividad enzimática proteolítica en el intestino, permitiendo la absorción en el área rectal (Walford y et al., 1991).

Person Le Ruyet et al. (1993) ensayaron con larvas de peces marinos, comparando alimento vivo con dietas artificiales comerciales. Cuando utilizaron Fry Feed Kyomwa observaron un retardo en el desarrollo larval, mientras que con el alimento JD Sevbar 1° age, no encontraron diferencias con respecto a crecimiento, en comparación con *Artemia*.

Probaron también dietas microligadas usando alginato como agente aglutinante. Evaluaron dos dietas con diferente composición (55-64% de proteína, 13-17% lípidos y 13-19% cenizas).

Obtuvieron 75% de sobrevivencia pero la calidad final de los juveniles fue pobre presentando además anomalías en el esqueleto.

Evaluaron el tiempo de evacuación de las larvas una vez que ingirieron el alimento, encontrando que cuando comieron *Artemia*, el 50% de las larvas vaciaban su tracto digestivo en 2.15 h y el total en 4.30 h; mientras que las que ingirieron las dietas artificiales, necesitaron 8 h para completar el vaciado. Pudieron observar que la capacidad de las larvas para digerir las dietas formuladas es, aparentemente, un factor limitante. Mencionan que la digestibilidad de las microcápsulas depende de la naturaleza de la membrana que conforma la pared.

Bengston (1993) publicó un artículo denominado “Un programa amplio para la evaluación de dietas artificiales” donde resalta que la evaluación de las dietas involucra algo más que realizar los bioensayos. Hay que tener información sobre el comportamiento de la dieta en la columna de agua (flotabilidad, lavado de nutrimentos, etc.), las capacidades digestivas y los requerimientos de las larvas y la aceptación del alimento y lo que ocurre con él dentro del organismo de la larva. Reconoce además, la necesidad de integrar un equipo interdisciplinario para la evaluación de las dietas artificiales.

Por último, Jones et al. (1993), al igual que otros autores, mencionan la problemática para el cultivo y manejo del alimento vivo y, que idealmente, el cultivo de las larvas debería consistir simplemente en adicionar cantidades apropiadas de alimentos preelaborados. Estos autores resumen los esfuerzos realizados por diferentes grupos de trabajo desde 1982 a 1990. En general, todos los casos son de uno de dos tipos de dietas: microencapsuladas o microparticuladas. Las primeras, se refieren al uso de la polimerización como metodología de encapsulamiento y las segundas, a dietas microligadas. Estas últimas, presentaron en la mayoría de los casos, problemas de inestabilidad en agua, es decir, de lavado de nutrimentos y por tanto, peligro de contaminación del agua del estanque.

En general, señalan que las dietas artificiales sólo son exitosas cuando se combinan con alimento vivo y que cuando se logran sobrevivencias altas, se observa un retardo en el crecimiento. Aunque sólo para el caso de langostas (*Homarus gammarus*), los autores señalan que el poco éxito con las dietas artificiales se debe a la pobre digestibilidad de las mismas.

## **ENZIMAS DIGESTIVAS DE LOS CRUSTACEOS**

La mayoría de los estudios sobre las enzimas digestivas de los crustáceos se han realizado en organismos juveniles. Se ha evaluado la actividad de las enzimas digestivas por muchos autores y se le ha utilizado como un indicador indirecto de los requerimientos nutrimentales potenciales de los crustáceos. Se ha sugerido que dicha actividad enzimática es indicativa también de los hábitos alimentarios (Zendejas, 1988). Estos estudios se han realizado en el hepatopáncreas de los decápodos, que es el órgano principal y vital de los crustáceos, responsable de la síntesis y secreción de enzimas digestivas, entre otras funciones.

El estudio, tanto de los jugos gástricos del hepatopáncreas (pH de 5.0 a 7.6) como de otras secreciones mucoides, ha revelado la presencia de amilasas en la mayoría de las especies. Estas enzimas presentan su actividad óptima en un intervalo de pH precisamente de 5.0 a 7.9.

Otras glucosil-hidrolasas incluyen alfa-glucosidasa (maltasa) con un pH óptimo entre 4.4 y 6.0, beta glucosidasa (celobiasa y gentiobiasa), alfa y beta galactosidasas (melibiasa y lactasa, respectivamente).

Las enzimas digestivas proteolíticas (proteasas o péptido hidrolasas) pueden agruparse en endopeptidasas, las cuales actúan en los enlaces peptídicos de las regiones internas de las moléculas de proteína para formar cadenas más cortas de polipéptido y exopeptidasas, que atacan las uniones terminales peptídicas, lo que culmina en la formación de aminoácidos individuales.

Entre las endopeptidasas la tripsina, quimotripsina, catepsina y clostridiopeptidasa A son peptidil peptil hidrolasas, mientras que las exopeptidasas incluyen alfa amino-acil-peptil-hidrolasas (aminopeptidasas), peptidil-amino hidrolasas (carboxipeptidasas) y dipéptido-hidrolasas.

Existe controversia en cuanto a la presencia de pepsinas en el hepatopáncreas. Algunos investigadores informan haber encontrado actividad de tripsina en algunas especies de crustáceos, mientras que otros señalan la presencia de una enzima similar a la tripsina. Otros investigadores concuerdan con la aseveración de la no existencia de enzimas pépticas en los crustáceos y que las enzimas “alcalinas” encontradas (pH de acción alrededor de 8) tienen una actividad compensatoria a la falta de pepsina en el jugo gástrico (Gibson y Barker, 1979; Forrellat et al. 1990).

Se informa también de la presencia de enzimas tipo quimotripsina, a partir de estudios con extractos gástricos y hepatopancreáticos. Sin embargo, este tipo de actividad fue mucho menor que la encontrada para las enzimas tipo tripsina.

Las enzimas colagenolíticas encontradas, tienen un pH de actividad óptima de 7.5 y utilizando extracto crudo de hepatopáncreas se demostró una degradación extensa del colágeno, indicando la presencia de verdaderas colagenasas (Gibson y Barker, 1979).

Entre otras actividades endopeptídicas de los decápodos, se encuentra la “caseinasa” que actúa en un intervalo de pH de 3 a 7.5 dependiendo de la especie. La iniciación de la digestión proteolítica por medio de las endopeptidasas que operan a pH ácido es lo que normalmente ocurre en todo el reino animal. Se han encontrado también exopeptidasas, carboxipeptidasas y dipeptidohidrolasas.

Las enzimas lipolíticas están presentes en los decápodos y actúan en la misma manera que en mamíferos y peces; se informa de la presencia de lipasas verdaderas y se define que hay dos grupos de esterases de muy diferente peso molecular.

Se han identificado también otros grupos enzimáticos que incluyen DNAsa (Gibson y Barker, 1979).

Lovett y Felder (1990a, 1990b y 1990c) observaron tres patrones de cambio ontogenético en la actividad enzimática de larvas y postlarvas de *Penaeus setiferus*: 1) proteasas, cuya actividad es baja en N5, incrementándose hasta un máximo para Zoea (Z3), disminuyendo hasta un mínimo alrededor de postlarva (PL1), comportamiento que se mantiene hasta PL7, con un incremento ligero durante el último estadio larval; 2) esterases, con actividades bajas en N5, incrementándose hasta un máximo en Z1, disminuyendo hasta un mínimo en M3 y a partir de ese estadio se estabiliza; 3) amilasas, cuya actividad es relativamente baja en N5, se incrementa hasta un máximo en M2 para disminuir hasta un mínimo en PL1-PL4. A partir de entonces ocurre un incremento conspicuo durante el desarrollo postlarval remanente.

La relación de la actividad amilasa/proteasa es alta en N5 y M2, pero es baja en Z3. Un incremento en la relación mencionada comienza en PL7 y continúa hasta PL24. La actividad de amilasa esencialmente muestra un comportamiento constante durante el desarrollo larval, pero después de PL4 la actividad se incrementa a través de todo el desarrollo.

Cabe señalar que dichos autores discuten que las actividades enzimáticas durante el desarrollo postlarval, no son resultado del cambio de la dieta, ya que en sus experimentos ésta no varió; entonces el cambio ontogenético en las actividades enzimáticas representa alguna modificación o cambio asociado con el desarrollo de las larvas. También señalan, que los cambios mencionados, pueden correlacionarse con la dieta y los hábitos alimentarios.

En el estadio Z1, las larvas de *P. setiferus* comienzan a alimentarse con algas y en ese momento su actividad esterásica es máxima. Al proporcionar nauplios de *Artemia* al comienzo del estadio M1, la actividad de tripsina y carboxipeptidasa A y B en las larvas es máxima en los estadios de Z3 a M1.

En los estadios tempranos de desarrollo las larvas se alimentan primordialmente por filtración y se convierten en depredadores primarios en M3. A partir de entonces la eficiencia filtradora comienza a disminuir hasta desaparecer durante PL1; las actividades enzimáticas disminuyen hasta M3 y alcanzando niveles muy bajos en PL1.

No obstante que existe correlación de los cambios ontogenéticos en la actividad enzimática con los cambios en los hábitos de alimentación, los cambios ontogenéticos en la actividad enzimática pueden ser la señal del desarrollo y pueden reflejar una regulación genética temporal de síntesis enzimática, mas que un cambio en la dieta.

## **LOS SISTEMAS DE MICROENCAPSULACION**

La encapsulación puede considerarse una forma especial de empacar, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente e influencias

deletéreas. En un sentido amplio la microencapsulación provee un medio de empacar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas. Las partículas minúsculas o gotitas de casi cualquier material pueden ser encapsuladas dentro de una pared y aisladas de atmósferas dañinas.

La encapsulación es una técnica que se ha aplicado para preservar y/o proteger numerosos ingredientes (Chen et al. 1988).

A continuación se presentan algunas definiciones: a) la pared o cápsula es el material que envuelve al producto encapsulado. Su componente principal podría ser cualquiera de los siguientes: gomas solubles en agua, almidones, azúcar, derivados de la celulosa, alcohol polivinílico, gelatina, caseína, formadores de película de muchos tipos usados ya sea solos o en combinación entre sí. Generalmente el material de la pared no reacciona con el producto encapsulado. b) Los agentes tensoactivos, plastificadores, antioxidantes, colorantes, pigmentos, absorbedores de luz UV, etc., son modificadores que se utilizan en combinación con los materiales de la pared para asegurar la encapsulación deseada. Los tensoactivos son los ingredientes más importantes en la formación de la pared o cápsula. Ellos inducen la encapsulación y la adhesión del material de la pared alrededor del producto a ser encapsulado (Balassa y Brody, 1968). Las cápsulas pueden secarse con alcohol anhidro, cloruro de calcio, vacío y calor radiante o por liofilización o por destilación azeotrópica. c) El líquido de proceso es llamado también líquido de suspensión. Por lo general, es un aceite mineral parafínico, con viscosidad estable sobre un intervalo amplio de temperaturas. Este podría tener también una tensión superficial elevada hacia la parte externa de la pared. Otros líquidos de proceso son los aceites vegetales, los silicones, ceras líquidas, etc.

Históricamente, la microencapsulación fue introducida de manera comercial en 1954 como un medio de hacer copias múltiples sin el uso de papel carbón (Gardner, 1966). El material que es cubierto se refiere a la fase interna; el material que cubre es llamado la pared. El material de la fase interna que requiere de ser protegido, puede tener casi cualquier propiedad.

Hay diferentes métodos para microencapsular, entre ellos, los más utilizados son: la coacervación, la polimerización (interfacial o por coacervación), el secado por aspersión, la gelación iónica, etc. (Luzzi, 1970).

De manera general puede decirse que la coacervación (simple y compleja) involucra la floculación o separación de líquidos de una solución, donde al menos uno de los líquidos contiene un soluto coloidal.

Este sistema de microencapsulación se caracteriza porque el material activo se suspende primero en una solución del material que formará la pared capsular. Se induce a que la pared polimérica se separe como una fase líquida, mediante la adición de un no solvente para el polímero, disminuyendo la temperatura o adicionando un inductor de fase como sería otro polímero que tenga alta solubilidad en el solvente previamente añadido. En este caso último, la incompatibilidad entre los dos polímeros causa que el primer polímero se separe como otra fase. Cuando la pared polimérica se separa como una fase líquida rica en polímero, esta fase es



llamada un coacervado y el proceso, coacervación. A medida que el coacervado se va formando, debe humedecer las partículas o gotitas suspendidas del material central en una fase continua. El paso final es el endurecimiento y el aislamiento de las microcápsulas, que es usualmente el paso más difícil del proceso (Kirk-Othmer, 1981).

Como contraste, la coacervación compleja ocurre sólo cuando dos o más coloides de carga opuesta están presentes. En el caso de la gelatina y la goma arábiga, se forma un coacervado complejo entre la goma arábiga cargada negativamente y la gelatina cargada positivamente (a pH abajo de su punto isoeléctrico). La coacervación compleja no puede ocurrir en soluciones concentradas, sino solamente en soluciones diluidas aún en diluciones tan bajas como 0.001% (Watanabe y Hayashi, 1976).

La polimerización interfacial es un proceso químico que depende de la generación de un polímero por la reacción, en la interfase, de solutos presentes en las fases acuosas y orgánicas respectivamente. Se requiere de la ayuda de solventes y/o detergentes y ajustando las condiciones de la reacción, puede variarse el tamaño de las partículas (Chang et al., 1966).

El secado por aspersión es uno de los métodos más utilizados actualmente para microencapsular. Su principio es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión, quede atrapado dentro de una película de material encapsulante.

Las primeras aplicaciones industriales del secado por aspersión correspondieron a la leche y a los detergentes y en el presente tiene una infinidad de aplicaciones donde sobresalen la industria de alimentos y la farmacéutica (Takenaka et al., 1982; Masters, 1985; Sankarikutty et al., 1988).

El secado por aspersión consiste en cuatro etapas de proceso: la atomización del fluido para tenerlo asperjado; el contacto del producto rociado con el aire; su deshidratación y la separación del producto seco (Masters, 1985).

Este sistema se ha utilizado en la deshidratación de cultivos del alga *Tetraselmis suecica* para alimentar a nauplios de *P. vannamei*, encontrando que el alga seca podía utilizarse sustituyendo hasta en un 75% al alimento vivo (Biedenbach et al., 1990) y también se ha utilizado como alimento de bivalvos (Lang y Gil 1991).

Uno de los factores de mayor relevancia en la encapsulación utilizando este sistema, lo constituye el material que forma la pared de la microcápsula. Se han utilizado diferentes polímeros de grado alimenticio tales como la goma acacia, almidones, maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, etc., sin embargo ningún material por sí solo muestra un comportamiento ideal.

Entonces, parece urgente el contar con un polímero con propiedades tensoactivas, soluble en agua y accesible económicamente (Bangs y Reineccius, 1988). En México, ante la gran

diversidad de materiales vegetales, la goma de mezquite se presenta como una opción con potencial para la resolución del problema mencionado, ya que ha mostrado ser capaz de estabilizar eficientemente las emulsiones acuosas (Vernon, 1981).

Otra posibilidad la constituye el uso de almidones de fuentes diferentes al maíz, como sería el de arroz, yuca y papa. Específicamente para yuca, el sureste de nuestro país presenta un potencial muy elevado de producción, sin embargo, actualmente su cultivo no es rentable debido a que su nivel de comercialización es bajo ya que no ha encontrado una utilización que le permita la justificación de su cultivo de manera más amplia. En cuanto a la papa, la extracción de su almidón aliviaría la situación en que se encuentra este cultivo, ya que desde hace más de dos años el excedente de producción de papa es tan grande que ha originado una caída drástica en el precio hasta tal punto que algunos agricultores ni siquiera levantan sus cosechas. No obstante el potencial de uso, todos estos materiales deben ser evaluados directamente como formadores de pared en los procesos de encapsulación.

La gelación iónica es otro sistema de microencapsulación que surgió a partir del interés en inmovilizar células de plantas y animales. La inmovilización se realiza formando partículas que incluyan a las células. Estas partículas protegen a las células y en algunos casos las partículas son microcápsulas con un centro líquido rodeadas de una membrana semipermeable que retiene los productos celulares deseados. En otros casos, las partículas son lechos de gel porosos permeables (Thies, 1986).

El proceso involucra el goteo de una suspensión de células-alginato en una solución diluida de cloruro de calcio para formar lechos de alginato de calcio. Se llevan a cabo una serie de lavados y tratamientos para transformar los lechos gelificados en microcápsulas con un centro líquido rodeado por una membrana semipermeable de hidrogel. La membrana es un polielectrolito complejo de alginato-policación.

Con la información hasta aquí presentada, se puede vislumbrar lo complejo de la situación de la elaboración de alimentos balanceados para larvas de crustáceos y de la necesidad de continuar la investigación al respecto.

Hay varios criterios que, desde nuestro punto de vista son cruciales. En el caso de dietas microencapsuladas, en primer lugar hay que destacar las características de la pared que las forman. De acuerdo a la revisión de las diversas investigaciones sobre el tema, la gran mayoría, involucran a la polimerización interfacial como sistema de microencapsulación siguiendo lo propuesto por Chang et al. (1966).

La pared estuvo constituida en un principio por un complejo nylon-proteína, que por problemas de toxicidad de los solventes utilizados, fue sustituida por una de proteína-proteína.

Como es sabido, las proteínas en sí mismas son polímeros complejos, que si además se hacen reaccionar entre sí involucran enlaces complejos, tales como puentes disulfuro (muy estables), enlaces hidrofóbicos, puentes de hidrógeno, etc., es decir, los tipos de enlace son altamente heterogéneos, lo cual podría explicar el bajo éxito en algunos casos, quizás debido a

digestibilidades bajas de los alimentos probados.

Si la pared de las microcápsulas está constituida por polisacáridos, se espera tener mayor homogeneidad en los enlaces que se formen entre cadenas, con predominio de los puentes de hidrógeno, dada la naturaleza de los carbohidratos.

Por otra parte, en un proceso industrial resulta muy importante encontrar la ruta más sencilla y eficiente y probablemente el secado por aspersión, cubra esta premisa mejor que cualquiera de los otros sistemas de microencapsulación.

A partir de estas premisas y considerando las actividades enzimáticas de larvas de crustáceos, se tuvo el planteamiento siguiente:

### **PROPUESTA**

Se propusieron tres polisacáridos como agentes encapsulantes (goma de mezquite, goma arábica y maltodextrina) y/o sus mezclas, utilizando la técnica de secado por aspersión. Como metodología de evaluación de las microcápsulas se determinaron: el tamaño promedio de partícula, su morfología (por microscopía electrónica), su flotabilidad y tasa de disolución en agua.

La formulación del alimento fue basada en las dietas formulada por Gaxiola (1991) para *P. schmitti*.

La dieta para las larvas de camarón fue encapsulada con cada uno de los tres polímeros seleccionados o sus mezclas de acuerdo a un diseño experimental Simplex (Hare, 1974) a dos valores de pH (4 y 8) y dos relaciones de dieta a material microencapsulante (1:2 y 1:3) como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1. Diseño experimental Simplex para la formación de la pared de las microcápsulas con los agentes poliméricos y sus mezclas.**

Tratamiento	Mezcla		
	Goma arábica	Goma de mezquite	Maltodextrina
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	50	50	0
5	50	0	50
6	0	50	50
7	33.33	33.33	33.33
8	66	17	17
9	17	66	17
10	17	17	66

La dispersión de los ingredientes de la dieta en las diversas mezclas de polímeros fue secada en un secador por aspersión Niro-Atomizer modelo Mobile Minor a una temperatura de entrada de  $170.0 \pm 5.0$  oC y una temperatura de salida de  $101.0 \pm 5.0$  oC.

Los resultados para el tamaño de partícula volumétrico promedio, la tasa de disolución y la flotabilidad de las microcápsulas bajo las cuatro condiciones experimentales (pH 4, relación dieta-goma 1:2; pH 8, relación dieta-goma 1:2; pH 4, relación dieta-goma 1:3; pH 8, relación dieta-goma 1:3) y para cada uno de los tratamientos (mezclas de gomas) se muestran en las Tablas 2 a 5.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos para el tamaño de partícula volumétrico promedio, la tasa de disolución y la flotabilidad de las microcápsulas a pH 4 y una relación dieta-goma 1:2. El análisis estadístico indica que los datos se pueden ajustar a un modelo cuadrático, pero de manera no-significativa, a un nivel de confianza del 95% y con un coeficiente de determinación del 59.13%.

**Tabla 2. Tamaño de partícula volumétrico promedio, tasa de disolución y flotabilidad de las microcápsulas a pH 4 y a una relación dieta-goma 1:2.**

Tipo de mezcla y proporción	Tamaño de partícula volumétrico promedio (mm)	Tasa de disolución (g/240 min)	Flotabilidad (% de transmitancia 395 nm)
GA 100%	21.92	0.0861	34.25
GM 100%	19.53	0.0972	29.00
AM 10DE 100%	13.88	0.0928	74.75
GA-GM 50-50%	19.30	0.1048	38.75
GA-AM 50-50%	28.58	0.1050	54.05
GM-AM 50-50%	24.61	0.1016	36.50
GM-AM-GA 33-33-33%	22.50	0.0900	34.60
GM-GA-AM 17-66-17%	20.78	0.1084	41.75
GM-GA-AM 66-17-17%	22.38	0.0976	42.35
GM-AM-GA 17-66-17%	24.61	0.1007	46.20

GM=Goma de Mezquite; GA=Goma Arábica; AM=Maltodextrina

Las diferencias en los tamaños de partícula promedio de las microcápsulas obtenidas con los distintos tratamientos se pueden explicar en términos de la composición, peso molecular y configuración de las gomas en solución acuosa.

Así pues, la maltodextrina DE 10 tiene un peso molecular promedio de 1800 (Kenyon y Anderson, 1988), mientras que las gomas de mezquite y arábica, siendo productos naturales tienen una masa molecular que varía de 250,000 a más de 1,000,000 (Smith y Montgomery, 1959; Glicksman y Sand, 1973; Williams et al., 1990), y donde supuestamente la goma de mezquite tiene una masa molecular mayor y una configuración más ramificada que la goma arábica. Adicionalmente, tanto la goma arábica como la de mezquite, contienen una pequeña fracción de material protéico que forma parte integral de su estructura (Williams et al., 1990), y tienen un comportamiento polielectrolítico en el cual su configuración en solución cambia con variaciones en el pH y con la presencia de iones (Vernon-Carter y Sherman, 1980; Basu et al., 1951).

Luego pues, a pH 4 las moléculas de las gomas de mezquite y arábica tienen una muy baja densidad de carga debido a su bajo grado de ionización y tienden a presentar una configuración contraída. La maltodextrina por su parte, no ve afectada su configuración por el pH, y como tiene una masa molecular mucho más pequeña que las de la goma de mezquite y arábica tiende a difundirse a una tasa mayor a la interfase formada por los ingredientes de la dieta, que las gomas de mezquite y arábica, resultando en un tamaño de partícula menor.

Mientras tanto, las gomas arábicas y de mezquite se difunden a la interfase a una velocidad más lenta que la maltodextrina, y cuando se absorben alrededor de los ingredientes de la dieta,

la mayoría de sus moléculas se proyectan hacia la fase acuosa. Debido al alto grado de ramificación de éstos polímeros, la capa absorbida alrededor de los ingredientes de las dietas son mucho más gruesas que las capas absorbidas de las maltodextrinas.

Cuando se emplea una mezcla de gomas de mezquite y arábica el tamaño de partícula volumétrico promedio de las microcápsulas tiende a ser más pequeño que cuando se usa cualquier de ambas gomas sola. Estos resultados indican que existe un efecto sinergista entre la goma de mezquite y la goma arábica.

Por el otro lado, los mayores tamaños de partícula volumétricos promedio de las microcápsulas ocurren con mezclas de goma arábica-maltodextrina, goma de mezquite-maltodextrina o con una mezcla de los tres polímeros en donde la proporción de maltodextrina predomina. La maltodextrina al difundirse rápidamente a la interfase tiende a cubrir la monocapa, obstaculizando la adsorción de las gomas de mezquite y arábica, las cuales se absorben como multicapas, formando capas adsorbidas de aún mayor grosor.

Esta interpretación permite explicar los resultados encontrados para la disolución y flotabilidad de los 10 tratamientos.

Aunque la tasa de disolución de las microcápsulas para los 10 tratamientos no difiere apreciablemente entre ellos, la mayor tasa de disolución ocurrió con las mezclas incorporando maltodextrina.

Con respecto a la flotabilidad de las microcápsulas, la peor ocurrió con las formulaciones conteniendo 100% maltodextrina o con mezclas conteniendo maltodextrina. Con 100% maltodextrina, aunque el tamaño de la microcápsula es pequeño, con una carga superficial pequeña ya que la maltodextrina es una molécula neutra, por lo que prácticamente no existen fuerzas repulsivas de consideración. Así pues, las microcápsulas tienden a flocularse y precipitarse.

Cuando las microcápsulas se formulan con mezclas de la maltodextrina con las otras dos gomas, el tamaño de partícula es mayor, aunque la tasa de floculencia disminuye debido al aumento de las fuerzas repulsivas originadas por la ionización de los grupos ácidos de las gomas. Estas microcápsulas se precipitan rápidamente debido a la Ley de Stokes, pero a una velocidad menor que las de 100% maltodextrina.

En la Tabla 3 se muestran los datos obtenidos para las microcápsulas a pH 8 y a una relación dieta-goma 1:2.

Una regresión múltiple del tamaño de partícula volumétrico promedio de éstas microcápsulas sigue significativamente el modelo cuadrático con un coeficiente de determinación de 65.01%.

**Tabla 3. Tamaño de partícula volumétrico promedio, tasa de disolución y flotabilidad de las microcápsulas a pH 8 y una relación dieta-goma 1:2.**

Tipo de mezcla y proporción	Tamaño de partícula volumétrico promedio (mm)	Tasa de disolución (g/240 min)	Flotabilidad (% de transmitancia 395 nm)
GA 100%	24.56	0.0933	39.15
GM 100%	22.50	0.1125	37.40
AM 10DE 100%	26.14	0.0888	32.45
GA-GM 50-50%	13.80	0.0940	40.45
GA-AM 50-50%	27.20	0.0849	26.85
GM-AM 50-50%	13.80	0.1082	25.85
GM-AM-GA 33-33-33%	13.80	0.0921	25.80
GM-GA-AM 17-66-17%	21.25	0.1207	29.25
GM-GA-AM 66-17-17%	17.43	0.1290	23.10
GM-AM-GA 17-66-17%	15.23	0.0644	35.25

= GM=Goma de mezquite; GA=Goma arábica; AM=Maltodextrina

Se puede ver que las microcápsulas hechas con 100% goma arábica o 100% goma de mezquite, o bien su mezcla 50-50, producen las microcápsulas de mayor tamaño de partícula. Este fenómeno es fácilmente explicable ya que a pH 8 ambas moléculas de las gomas se encuentran casi totalmente ionizadas, adoptando una configuración extendida. Adicionalmente, la pequeña fracción proteínica de las gomas, que es la responsable principal de la adsorción de las moléculas en la interfase, se encuentra también cargada, ya que se encuentra lejana a su punto isoelectrónico, contribuyendo a la configuración molecular expandida de la capa absorbida.

Por el otro lado, resulta sorprendente que las microcápsulas formuladas con 100% maltodextrina o preponderante en la mezcla muestren tamaños de partícula grandes, al menos que a pH 8 las moléculas de la maltodextrina tiendan a hincharse como sucede a las moléculas de almidón durante el proceso de gelatinización, lo cual ocasionaría que la tasa de difusión y adsorción de las moléculas a la interfase sea menor, ocurriendo un mayor tamaño de partícula.

Las microcápsulas que exhibieron la menor tasa de disolución fueron precisamente aquellas incorporando 100% maltodextrina o cuando ésta predomina en la mezcla, mientras que las mezclas donde predominan la goma arábica o de mezquite mostraron las mayores tasas de disolución.

En términos generales, la disolución de las microcápsulas es mayor a pH 8 que a pH 4. Esto se debe a que a pH 4 la fracción proteínica de las gomas se encuentra cerca del punto isoelectrónico, teniendo una afinidad por los ingredientes de la dieta. La fracción polisacárida de las moléculas de las gomas proyectadas dentro de la fase acuosa, tienden a fomentar interacciones polímero-

polímero sobre interacciones polímero-solvente, haciendo las microcápsulas a pH 4 más insolubles.

La flotabilidad de las microcápsulas a pH 8 resultó peor con las formulaciones incorporando pura goma arábica o de mezquite, o con una mezcla de ambas, y la mejor flotabilidad se dio con la mezcla de los tres polímeros en iguales proporciones. Aparentemente el fenómeno de hinchazón de la maltodextrina, cuando ésta se encuentra en bajas concentraciones, tiende a mantener en suspensión a las microcápsulas.

Las microcápsulas a pH 4 y a una relación dieta-goma 1:3 (Tabla 4), se ajustan significativamente a una ecuación cuadrática con un coeficiente de determinación de 77.80%:

**Tabla 4. Tamaño de partícula volumétrico promedio, tasa de disolución y flotabilidad de las microcápsulas a pH 4 y una relación dieta-goma 1:3.**

Tipo de mezcla y proporción	Tamaño de partícula volumétrico promedio (mm)	Tasa de disolución (g/240 min)	Flotabilidad (% de transmitancia 395 nm)
GA 100%	25.87	0.0871	49.30
GM 100%	26.04	0.0909	49.50
AM 10DE 100%	42.15	0.0979	53.50
GA-GM 50-50%	25.92	0.0902	37.85
GA-AM 50-50%	31.28	0.0939	51.20
GM-AM 50-50%	34.42	0.0950	50.30
GM-AM-GA 33-33-33%	32.23	0.0850	47.80
GM-GA-AM 17-66-17%	26.04	0.0990	48.10
GM-GA-AM 66-17-17%	28.43	0.1080	44.55
GM-AM-GA 17-66-17%	31.44	0.0939	46.05

GM=Goma de Mezquite; GA=Goma Arábica; AM=Maltodextrina

Estos resultados muestran que incrementando la concentración del material de pared alrededor de las partículas de dieta, el grosor de la capa absorbida aumenta, incrementándose el tamaño promedio de partícula. Sin embargo, el comportamiento de las microcápsulas es básicamente el mismo que a pH 4 y con una relación dieta-goma 1:2. Esto resulta importante, ya que entre menor sea la cantidad de agente encapsulante, mejor puede ajustarse el contenido proteínico de la dieta.

Las tasas de disolución permanecen constantes o disminuyen ligeramente conforme se incrementa la concentración de los polímeros. La diferencia en flotabilidad entre las distintas mezclas de goma, tiende a minimizarse al aumentar la concentración del material de pared.



Por último, los resultados para las microcápsulas a pH 8 y una relación dieta-goma 1:3 se muestran en la Tabla 5.

Los datos para el tamaño de partícula se ajustan significativamente al modelo cuadrático mostrado a continuación, con un coeficiente de determinación del 84.61%:

Conforme se incrementa la concentración de los polímeros en la formulación, la divergencia en el comportamiento de las microcápsulas a pH 8 y pH4 tiende a desaparecer, aunque éstas microcápsulas muestran la peor tasa de dilución y de flotabilidad.

**Tabla 5. Tamaño de partícula volumétrico promedio, tasa de disolución y flotabilidad de las microcápsulas a pH 8 y una relación dieta-goma 1:3.**

Tipo de mezcla y proporción	Tamaño de partícula volumétrico promedio (mm)	Tasa de disolución (g/240 min)	Flotabilidad (% de transmitancia 395 nm)
GA 100%	31.44	0.0783	46.95
GM 100%	31.44	0.0968	40.65
AM 10DE 100%	13.88	0.0894	36.35
GA-GM 50-50%	27.25	0.0957	40.85
GA-AM 50-50%	29.51	0.0911	36.90
GM-AM 50-50%	30.04	0.0921	40.80
GM-AM-GA 33-33-33%	30.78	0.0860	41.65
GM-GA-AM 17-66-17%	29.93	0.0975	45.80
GM-GA-AM 66-17-17%	29.51	0.1128	48.20
GM-AM-GA 17-66-17%	30.04	0.0994	47.65

= GM=Goma de Mezquite; GA=Goma Arábiga; AM=Maltodextrina

En cuanto a la morfología de las microcápsulas a continuación se da una descripción para cada uno de los tratamientos:

D) pH 4, relación dieta-goma 1:2. A excepción de las microcápsulas formadas con 100% maltodextrina, el resto de los tratamientos mostraron estructuras similares que se podrían describir como esféricas con protuberancias o “chipotes”. Las microcápsulas formadas con 100% goma arábiga exhiben una superficie rugosa, en donde se manifiestan depresiones u hoyos más profundos, que las microcápsulas elaboradas con 100% goma de mezquite que presentan un tamaño de partícula más uniforme y una superficie pareja sin defectos.

Sin lugar a dudas, las microcápsulas con 100% maltodextrina presentaron la mayor cantidad de defectos, manifestados en la presencia de muchos hoyos, de forma irregular, superficie muy tosca.

Las mezclas con partes iguales de goma arábiga y de mezquite dieron las mejores microcápsulas. Estas se caracterizan por tener un tamaño de partícula homogéneo, forma esférica, superficie lisa prácticamente libre de “chipotes”. Estas microcápsulas también presentan la mejor flotabilidad. Otra mezcla que exhibe buenas características es aquella formulada con 16% goma arábiga, 66% goma de mezquite y 16% maltodextrina.

Las mezclas en que la maltodextrina se encuentra en una proporción 1:1 con la goma arábiga o de mezquite, o cuando predomina en la mezcla de los tres polímeros, forman pésimas microcápsulas llenas de defectos.

II) pH 4, relación dieta-goma 1:3. Las microcápsulas formadas con 100% goma arábiga o maltodextrina exhibieron muchos hoyos y fracturas. Aquellas formuladas con 100% goma de mezquite dieron las mejores microcápsulas, seguidas por aquellas formuladas con los tres polímeros pero en que la proporción preponderante era la goma arábiga o la de mezquite.

III) pH 8, relación dieta-goma 1:2. Irrespectivamente del tratamiento, todas las microcápsulas muestran muchos defectos. Los peores tratamientos son con 100% goma arábiga y 100% maltodextrina. Los mejores tratamientos fueron con 100% goma de mezquite, seguido de las mezclas 50% goma arábiga-50% goma de mezquite y de 66% goma de mezquite-16% goma arábiga-16% maltodextrina.

IV) pH 8, relación dieta-goma 1:3. Como en el tratamiento anterior todas las microcápsulas formadas son malas. Las mejores microcápsulas se obtuvieron con una mezcla 50% goma arábiga-50% goma de mezquite, seguidas de la mezcla de los tres polímeros donde la goma de mezquite está en la mayor proporción.

Los resultados de este estudio permitieron evaluar el efecto de la cantidad de los polímeros, del pH y de la relación dieta/agente encapsulante, sobre las propiedades de las microcápsulas para larvas de camarón, indicando la importancia de caracterizar las dietas microencapsuladas como parte de la determinación de la eficiencia y funcionalidad de los agentes encapsulantes.

Es recomendable recurrir a otras técnicas como la calorimetría diferencial de barrido, para tener un acercamiento más preciso del tipo de interacción que ocurre entre los polímeros y desde luego hacer pruebas de digestibilidad *in vitro* para poder establecer las relaciones entre este parámetro y las propiedades fisicoquímicas del alimento. Por último, con el material así seleccionado, efectuar, los bioensayos.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Bangs, W.E. and Reineccius, G.A. 1988. Corn starches derivatives. En Flavor Encapsulation. Risch, S. y Reineccius, G. editores. ACS Symposium Series 370. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Basu, S., Dasgupta, P. and Sircar, A.K. 1951. Studies in polyelectrolytes II. Gum arabate. J. Colloid Sci. 6, 539- .
- Bengston, D. 1993. A comprehensive program for the evaluation of artificial diets. J. World Aquaculture Society 24 (2): 285-293.
- Castell, J. and Kean, J. Editores. 1986. The Crustacean Nutrition Newsletter. 3(1): 12-13.
- Cruz, A. and Ortega, S. 1989. La selección del tamaño de las partículas alimenticias por las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. Revista de Investigaciones Marinas X(2): 163-174.
- Chamberlain, G.W. 1988. Larval feeds. ASA Technical Bulletin. Vol 2 AQ7.
- Chang, T.M.S., MacIntosh, F.C. and Mason, S.G. 1966. Semipermeable aqueous microcapsules. Y. Preparation and properties. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 44: 115-128.
- Chen, A.C., Veiga, M.F. and Rizzuto, A.B. 1988. CocrySTALLIZATION: an encapsulation process. Food Technology, November: pp 87-89
- Flores, T.A. 1988. Aspectos generales de la producción larvaria de camarón. En: Memorias del seminario nacional de cultivo larvario de camarón peneido. Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. San Blas, Nayarit. México.
- Gaxiola, G. 1991. Requerimientos nutricionales en postlarvas de *P. schmitti*: relaciones proteína/energía y proteína animal/vegetal. Tesis de Maestría. Universidad de la Habana. Centro de Investigaciones Marinas. Cuba.
- Gardner, G.L. 1966. Manufacturing encapsulated products. Chemical Engineering Progress 62(4):87-91.
- Gibson, R. y Barker, P.L. 1979. The Decapod Hepatopancreas. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 17: 285-346. Margaret Barnes, De. Aberdeen University Press.
- Glicksman, M. and Sand, R.E. 1973. Gum arabic. En: Industrial gums. Whistler, R.L. (Ed.). 2nd. edition. Academic Press. N.Y. Pp. 197- 263.
- Hare, L.B. 1974. Mixture designs applied to food formulation. Food Technol.(3): 50-62

- Jaime, B. and Garcia, T. 1990. Influencia del tamaño del alimento en el crecimiento y supervivencia de las postlarvas avanzadas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* XI(1): 71-76.
- Jones, D.A. and Gabbott, P.A. 1976. Prospects for the use of microcapsules as food particles for marine particulate feeders. En *Microencapsulation*. J.R. Nixon (editor). *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. Marcel Dekker, Inc. Vol 3 pp77-91.
- Jones, D.A., Holland, D.L. and Jabborie, S. 1984. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 10: 275-288.
- Jones, D.A., Kanazawa, A. and Rahman, S.A. 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 17:33-43.
- Jones, D.A., Moller, T.H., Campbell, R.J., Munford, J.C. and Gabbott, P.A. 1976. Studies on the design and acceptability of microencapsulated diets for marine particle feeders. En "Proc. 10th European Symp. Mar. Biol. Oostend, Belgium 1975" (Editado por Persoone, G. and Jaspers, E.) vol 1, *Crustacea*. Universa Press Wetteren pp 229-239.
- Jones, D.A., Salleh, M.K. and Le Vay. 1993. The potential for replacement of live feeds in larval culture. *J. of the World Aquaculture Society* 24: 2, pp 199-210.
- Kanazawa, D.A., Teshima, S., Inamori, S., Sumida, S. and Iwashita, T. 1982. Rearing of larval red seabream and ayu with artificial diets. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.* 31:185-192.
- Kanazawa, A. and Teshima, S. 1988. Microparticulate diets for fish larvae. En: *New and innovative advances in Biology/Engineering with potential for use in Aquaculture*. Sparks, A.K. (Ed.). NOAA Tech. Rep. NMFS 70, Natl. Mar. Fish. Serv., Seattle, WA.
- Kenyon, M. and Anderson, R. 1988. Maltodextrin and low-dextrose equivalent corn syrup solid: production and technology for the flavor industry. En: *Flavor encapsulation*. Risch, S. y Reineccius, G. (Eds.). A.C.S.Pp. 7-11.
- Kirk-Othmer. 1981. *Microencapsulation*. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 3a. edición. John Wiley and Sons. Nueva York. Vol.15. Pp 447-480.
- Laing, I. and Gil, V.C. 1991. Nutritional value of spray-dried *Tetraselmis suecica* for juvenile bivalves. *Aquaculture* 92:207-218
- Lim, C. and Dominy, W. 1990. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture* 87, 53-63.
- Lovett, D. and Felder, D. 1990a. Ontogeny of kinematics in the gut of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *J. of Crustacean Biology* 10(1):53-68.

- Lovett, D. and Felder, D. 1990b. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull* 178:144-159.
- Lovett, D. and Felder, D. 1990c. Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull* 178:160-174.
- Luzzi, L.A. 1970. Microencapsulation. *J. Pharmaceutical Sciences* 59 (10):1367-1375.
- Masters, K. 1985. *Spray Drying Handbook*. 4a. edición. John Wiley and Sons. N.Y.
- Meyers, S.P. 1973. *Feedstuffs*, Lond., 35-45.
- Person Le Ruyet, J., Alexandre, J.C., Thébaud, L. and Mugnier C. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. of World Aquaculture Society* 24: 2 pp 211-224
- Piedad-Pascual, Cruz, E. and Sumalangcay, A. 1990. Supplemental feeding of *Penaeus monodon* juveniles with diets containing various levels of defatted soybean meal. *Aquaculture* 89, 183-191.
- Sankarikutty, B., Sreekumar, M.M., Narayan, C.S. and Mathew, A.G. 1988. Studies on microencapsulation of Cardamon oil by spray drying technique. *J. Food Sci. Technol.* 25(6):352-356.
- Smith, F. and Montgomery, P. 1959. *The Chemistry of Plant Gums and Mucilages*. Reinhold Publishing Co. N.Y
- Takenaka, H., Kawashima, Y., Chikamatsu, Y. and Ando, Y. 1982. Mechanical properties, dissolution behavior and stability to oxidation of L-Ascorbylmonostearate microcapsules prepared by a spray-drying polycondensation technique. *Chem. Pharm. Bull.* 30(6):2189-2195.
- Teshima, S., Kanazawa, A., and Sakamoto, M. 1982. Microparticulate diets for the larva of aquatic animals. *Min. Rev. Data File Fish. Res.* 2, 67-86
- Thies, C. 1986. *How to make microcapsules*. University of Washington, EUA.
- Vernon, C.E.J. 1981. Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis juliflora*) gum in emulsion stabilization. Tesis de Doctorado. Universidad de Londres.
- Vernon-Carter, E.J. and Sherman, P. 1980. Rheological properties and applications of mesquite tree (*Prosopis juliflora*) gum. 1. Rheological properties and applications of mesquite gum solutions. *J. Texture Studies* 11, 339-349.
- Villamar, D.F. and Brusca, G.J. 1987. Survival and growth of *Crangon nigricauda* larvae (Decapoda,

- Caridea) raised on experimental diets. *J. World Aquaculture Soc.* 18(1): 11-25
- Villegas, C.T. and Kanazawa, A. 1980. Rearing of the larval stage of prawn *Penaeus japonicus* bate, using artificial diet. *Memories of the Kagoshima University Research Center for the South Pacific*. Vol. 1 No. 1. Pp 43-49.
- Walford, J. and Lam, T.J. 1987. Effect of feeding with microcapsules on the content of essential fatty acids in live foods for the larvae of marine fishes. *Aquaculture* 61:219-229.
- Walford, J., Lim, T.M. and Lam, T.J. 1991. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass (*Lates calcarifer*) larvae: do the larvae ingest and digest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture* 92:225-235.
- Watanabe, A. and Hayashi, T. 1976. Microencapsulation techniques of Fuji Photo Film Co. Ltd., and their applications. En: *Microencapsulation*. Nixon, J.R. editor. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. Pp 13-38.
- Wickins J.F. and Beard, T.W. 1979. Prawn culture research. Laboratory Leaflet No. 42. Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food. Directorate of Fisheries Research. Middlesex, Inglaterra.
- Williams, P.A., Phillips, G.O. and Randall, R.C. 1990. Structure-function relationships of gum arabic. En: *Gums and Stabilizers for the Food Industry*. Phillips, G.O., Wedlock, D.J. and Williams, P.A. (Eds.). IRL Press, Oxford. Pp.25-36.
- Zendejas, H.J. 1988. Alimentación artificial de langostino. *Memorias del seminario Nacional de cultivo y comercialización de langostino*. Secretaría de Pesca y Fondepesca. México. Pp 167-182.