

28
25



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DEL EFECTO DEL GLUTARALDEHIDO
COMO AGENTE DE ENTRECruzAMIENTO EN UNA
DIETA MICROENCAPSULADA PARA LARVAS
DE CAMARON.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

SILVIA SUSANA MARTIÑON GUTIERREZ

ASESORES: M.V.Z. MARCELA FRAGOSO CERVON
M. EN C. RUTH PEDROZA ISLAS
M.V.Z. JAIME ALONSO NAVARRO HERNANDEZ



MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

275776



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Evaluación del efecto del glutaraldehído como agente de entrecruzamiento en una dieta microencapsulada para larvas de camarón.

**Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales
de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

de la

**Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista**

por

Sivia Susana Martiñón Gutiérrez.

Asesores:

M.V.Z. Marcela Fragoso Cervón.

M. en C. Ruth Pedroza Isias.

M.V.Z. Jaime Alonso Navarro Hernández.

**A Dios, por todas las cosas,
buenas y malas que me ha dado en la vida.**

**A mis padres, por la dedicación, paciencia y
cañío que me han ofrecido durante tanto tiempo.**

A mis hermanos Gabriel y Serena.

Agradecimientos:

A la Universidad Iberoamericana Santa Fé, a la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Especialmente al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares donde se llevó a cabo la prueba de morfología.

A las personas que me apoyaron en la realización de éste trabajo: Dra. Marcela Fragoso, Dra. Ana Auró y todos los miembros del Departamento de Producción Acuícola. A la Química María Antonieta Aguirre y M.V.Z. Agustín Bobadilla del Depto. de Nutrición Animal de la F.M.V.Z. Al M. en C. Felipe Pietrini, a Samuel y los chavos del almacén de los laboratorios de Nutrición en la Ibero: Miguel, Memo y Martín. A las M. en C. Catalina Martínez y Paty Chávez (♀). A la Dra. Frida Salmerón, a mi hermano M.V.Z. Gabriel Martiñón, y todas aquellas personas que de una u otra forma cooperaron para la realización de éste trabajo.

A todas las personas que de una u otra manera han intervenido en el desarrollo de mi vida, en especial a: Ricardo, Hugo, Mai, Araceli, Ina, Lili, Alberto, Juan, Nancy, José Juan, Enrique, Micky, Marino y Guillermo quienes incondicionalmente me entregaron su amistad.

A los miembros del Jurado, por el tiempo y comentarios amablemente otorgados a este trabajo.

*Quien va tras los montes no se
detiene a recoger las piedras del camino.*

José Martí.

Contenido

	Página
Resumen	1
Introducción	2
Material y Métodos	9
Resultados	12
Discusión	15
Conclusiones	19
Literatura citada	20
Cuadros y figuras.....	25

Resumen

MARTIÑÓN GUTIERREZ, SILVIA SUSANA. Evaluación del efecto del glutaraldehído como agente de entrecruzamiento en una dieta microencapsulada para larvas de camarón (bajo la dirección de M.V.Z. Marcela Fragoço Cervón, M en C. Ruth Pedroza Islas y M.V.Z. Jaime Alonso Navarro Hernández.)

En los laboratorios de producción se ha intentado alimentar a las larvas de camarón con dietas comerciales concentradas y balanceadas, sin embargo estos alimentos presentan diversos problemas como son el comportamiento en el agua: la solubilidad, flotabilidad, tamaño y forma del alimento, así como la baja digestibilidad. Se ha intentado el uso de peletizados, microgranulados y microencapsulados para proporcionar el alimento, siendo estos últimos los más promisorios, a pesar de que no se ha logrado desarrollar una pared que sea capaz de preservar a los nutrientes y la digestibilidad de estos a la vez. En el presente trabajo se utilizaron gomas de mezquite y arábica como formadoras de la microcápsula, en combinación con glutaraldehído que es un agente entrecruzador de proteínas; se realizaron exclusivamente pruebas de comportamiento en el agua: solubilidad, morfología, tamaño de partícula y flotabilidad, además de capacidad de encapsulamiento, donde se observó que el uso de glutaraldehído no alteró la solubilidad de las microcápsulas, el uso de glutaraldehído a dosis de 0.4% favorece la formación de microcápsulas de superficie regular y mayor tamaño. En cuanto a la capacidad de encapsulamiento y la flotabilidad no se vio interacción entre las gomas y el glutaraldehído por lo tanto no hubo alteración ($P > 0.05$).

Introducción

En México, la industria camarónica es una de las más importantes del área pesquera, no tanto por su volumen de producción con respecto a todas las demás especies (6.12% para 1995), sino porque la mayor proporción es para exportación, lo que representa una entrada importante de divisas para el país (1). Las principales especies que se cultivan son *Litopenaeus stylirostris* y *Litopenaeus vannamei* (2).

Para su cultivo en granjas es necesario saber que el camarón pasa por una serie de metamorfosis desde que eclosiona del huevo hasta llegar a adulto (Figura 1). Los estadios por los que pasa son: nauplio con cinco mudas a las que se les designa como N1, N2, N3, N4 y N5, el segundo estadio es la protozoa en la cual suceden tres mudas conocidas como Pz1, Pz2 y Pz3, y mysis que también pasa por tres mudas llamadas M1, M2 y M3 (3). Después de ésta metamorfosis el camarón es una postlarva bien desarrollada y lista para engordarse. El nauplio se alimenta de su vitelo, pero las zoeas tienen que buscar su alimento entre las algas microscópicas unicelulares del ambiente, siendo por lo tanto las fases más críticas del ciclo (4). En los laboratorios de producción se ha intentado proporcionar a las zoeas los nutrientes que necesitan por medio de alimentos concentrados y balanceados, pero éstos tienen problemas de estabilidad en el agua, esto es no se distribuyen uniformemente en la columna, se lixivian los nutrientes o no están presentes por un mal "empaquetamiento" o presentación, además de la baja digestibilidad. A causa de lo anterior se puede presentar una marcada desnutrición de las formas juveniles aumentando así la tasa de mortalidad, pues estas etapas son más susceptibles a enfermedades como afirma Chapa (4).

Los camarones cultivados en estanquería se pueden alimentar con diversas fuentes tales como invertebrados marinos o de aguas salobres, por ejemplo pequeños moluscos

bivalvos, pequeños gasterópodos y crustáceos capturados en la zona de intermareas y en aguas costeras de poca profundidad (5), o aquellos invertebrados producidos en laboratorio con el fin de que sirvan de alimento, lo que causa que los costos de producción se eleven, pues su producción es difícil y requiere de equipo especializado, o bien, a base de alimentos con dietas comerciales formuladas bajo diferentes formas de presentación como podrían ser peletizados, microgranulados y microencapsulados, que se pueden proporcionar al camarón en sus diferentes estadios de desarrollo, con niveles diferentes, de contenido proteico de acuerdo con la biomasa existente en los estanques de engorda (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Para la elaboración de alimentos inertes se han ensayado diversos procesos, tales como los microparticulados y los microencapsulados, siendo éstos últimos, altamente promisorios. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha podido obtener una dieta microencapsulada capaz de sostener por ella misma el desarrollo de las larvas, de ahí que siempre deba suministrarse en combinación con alimento vivo, como complemento alimenticio. Prácticamente todos los reportes sobre dietas microencapsuladas se refieren a la microencapsulación por coacervación y poco se ha ensayado sobre otros sistemas. (12,13, 14, 15, 16, 17, 18).

La microencapsulación se define como el proceso de colocación de una micropartícula o núcleo en una fase continua de polímero (19), esto es que pequeñas unidades químicas simples se unan para formar una gran molécula (20). El material que forma la pared es un punto crítico de la microencapsulación; se ha probado con diferentes materiales como son goma arábica, goma de mezquite, almidones, dextrinas, aceites vegetales hidrogenados, gelatinas, o bien proteínas (21, 22). Cuando se utilizan hidrocoloides como las gomas antes mencionadas, ya sea solas o en combinación con maltodextrinas, la permeabilidad de las microcápsulas es elevada, lo que reduce su permanencia en el agua sin lavado de nutrimentos (22). Hay diversos agentes químicos

que podrían influir favorablemente en ésta característica, como por ejemplo los llamados agentes de entrecruzamiento, que reaccionan específicamente con las proteínas, creando estructuras cruzadas, que son enlaces químicos que le confieren mas fuerza a la molécula, pero a su vez es más flexible, teniendo como efecto neto el endurecimiento de la pared. Tanto la goma arábica como la de mezquite, han mostrado ser buenos formadores de película por su alta eficiencia para encapsular, sobre todo sabores, así como su alta solubilidad en medio acuoso. Ambas gomas, están constituidas principalmente por azúcares, sin embargo, contiene una fracción proteica que les confiere propiedades formadoras de película. Esta fracción no representa más del 4% de su composición. Uno de los problemas que plantea la microencapsulación es la baja digestibilidad, la cual, está relacionada con las características de la pared, pues una pared muy rígida será indigestible, mientras que una pared demasiado soluble permitirá la lixiviación de los nutrientes, lo cual dificulta o no la disponibilidad de los nutrientes (23).

Para la elaboración de microcápsulas existen tres tipos de métodos:

- **Coacervación:** Éste tipo de encapsulación se caracteriza por que el material a encapsular se coloca en un medio líquido que formará la pared. Se induce a que la pared polimérica se separe como una fase líquida, mediante la adición de un agente no solvente para el polímero, disminuyendo la temperatura o adicionando un inductor de fase como sería otro polímero de alta solubilidad en el solvente previamente adicionado. Cuando la fase polimérica se separa como una fase líquida rica en polímero, se le conoce como coacervado y al proceso coacervación. El paso final es el endurecimiento y aislamiento de las partículas, lo cual es usualmente el paso más difícil del proceso (24).

- **Gelación:** Existen dos tipos de gelación: a) la gelación iónica y b) la gelación térmica. La primera surgió de la necesidad de conservar células animales y vegetales, el

proceso consiste en el goteo de una suspensión de células con alginato en una solución de cloruro de calcio para formar lechos gelificados de alginato de calcio. Mediante una serie de lavados se convierten los lechos gelificados en microcápsulas con centro líquido rodeado por una membrana que es un polielectrolito complejo de alginato-polivinilpirrolidona. Por otra parte, en la gelación térmica utilizan como sustratos polisacáridos como la carragenina, la pectina y la agarosa, debido a que gelifican y forman una pared tridimensional con dobles hélices. Estos geles son térmicamente reversibles (25).

- **Secado por aspersión:** Es uno de los procesos para microencapsular más utilizado recientemente. Se basa en 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. Como el agua se evapora inmediatamente, el polvo queda envuelto en una capa de material encapsulante (26). El secado por aspersión consta de cuatro pasos: a) atomización del fluido para tenerlo asperjado, b) el contacto del producto rociado con el aire, c) la deshidratación del producto y finalmente d) la separación del producto terminado y seco (27). Las primeras aplicaciones fueron a la leche y a los detergentes, pero su uso se ha extendido hasta la industria alimentaria y farmacéutica (27, 28, 29). Cabe mencionar que éste es uno de los métodos más sencillos para encapsular, y que en México se conoce y utiliza más.

Uno de los factores críticos en la elaboración de microencapsulados para alimentar larvas de camarón es el material para microencapsular, su adecuada selección dependerá del uso al que se destinen y el comportamiento que presenten en el medio donde las microcápsulas serán utilizadas: seco o líquido y si es acuoso u oleoso. Para el presente trabajo se investigó la elaboración de microcápsulas para la alimentación de larvas de camarón en estanque buscando presentaran características de solubilidad lenta

en el agua y a la vez con la suficiente estabilidad para conservar los nutrientes que contienen, hasta ser consumidas por la larva.

Para elaborar alimentos microencapsulados se han utilizado polímeros como la goma de mezquite, los almidones, maltodextrina, sólidos de jarabe de maíz y proteínas, pero cada uno presenta problemáticas diferentes, por ejemplo, la goma de mezquite fluctúa frecuentemente en precio por ser de importación, además de que en ocasiones, escasea en el mercado; las proteínas son estables pero resultan demasiado caras, los almidones, maltodextrina y demás derivados del maíz no son capaces de formar emulsiones acuosas estables (30).

Una opción para mejorar las características de la pared es mezclar varios agentes microencapsulantes, buscando una sinergia que complemente las propiedades de cada material, o bien adicionando compuestos promotores de reacciones en interacción con los agentes encapsulantes, de tal forma que se subsanen las deficiencias que por sí solos pudieran presentar.

El glutaraldehído es un reactivo usado ampliamente como fijador para microscopía electrónica y citoquímica ya que preserva los organelos de las células así como su antigenicidad(31), en medicina y odontología se utiliza también como solución desinfectante y esterilizante a la concentración del 2. En cirugía cardíaca se ha utilizado como fijador de bioprótesis de válvulas (31,32).

Esta sustancia también es conocida como dialdehído glutárico, pentanedial, glutaral y 1,3- diformilpropano, es una molécula de cinco carbonos que tiene dos grupos aldehidos, uno a cada lado de la cadena carbonada, ambos grupos pueden reaccionar con los grupos amino de las proteínas. Es soluble en agua y produce una solución ácida débil. Su peso molecular es de 100.11 daltones, por ello es menos volátil que otros

aldehidos. En odontología, la resonancia magnética nuclear, ha demostrado que se polimeriza mucho y que contiene proporciones significativas de aldehído no saturado (33). Estas características fisicoquímicas, baja volatilidad, alta polimerización y agente de entrecruzamiento, lo hacen una buena opción para reforzar a los agentes encapsulantes que contienen proteínas.

Hipótesis

El glutaraldehído interactuará con la fracción proteica de las gomas arábica y de mezquite como agente entrecruzador de proteínas, afectando las características de flotabilidad, capacidad de encapsulamiento, solubilidad en medio acuoso, morfología, y tamaño de las microcápsulas utilizadas para alimentar larvas de camarón.

Objetivo

Desarrollar una pared de polisacáridos que permita microencapsular alimento para larvas de camarón, la cual contenga los ingredientes nutritivos, además de presentar un comportamiento adecuado en un sistema acuoso.

Material y métodos

Elaboración de las raciones alimenticias:

Para la elaboración de las raciones se prepararon previamente las harinas de calamar y camarón: se colocaron, por separado, los calamares y los camarones, en charolas de acero inoxidable dentro de una estufa de desecación a 70° C durante seis días el calamar y cuatro el camarón, posteriormente se molieron en un molino de martillos y se tamizaron para obtener harinas con un tamaño de partícula menor a 40 µm. Enseguida se elaboró la dieta propuesta de Gaxiola (34) para *L. schmitti* (cuadro 1); donde se utilizó como materia prima harinas de pescado, calamar y camarón, levadura de cerveza, harina de soya, almidón, aceite de hígado de bacalao, aceite vegetal, colesterol, premezclas comerciales de vitaminas y minerales (Alimentos Tecnopecuarios Albafor, Guadalajara, Jalisco), vitamina C y lecitina.

Elaboración de las microcápsulas:

Como metodología de microencapsulación se utilizó el secado por aspersión por medio de un secador Niro- Atomizer modelo Mobile Minor® (Copenhagen, Denmark), con las condiciones de operación sugeridas por Rullán (23) y presentadas en el cuadro 3.

Los agentes encapsulantes utilizados fueron goma arábiga y goma de mezquite, ya sea solos o en combinación, las proporciones de las gomas que se muestran en el cuadro 2 se obtuvieron mediante un diseño de mezclas para dos componentes (37), la relación de dieta: agente encapsulante fue de 1:2 de acuerdo a lo recomendado por Pedroza y cols. (35), las dietas se colocaron en una solución amortiguadora de fosfatos (Lab. SIGMA) con pH 4 (36) en una relación dieta-gomas:solución amortiguadora de 1:3.

Se añadieron dos concentraciones de glutaraldehído al amortiguador, 0.4% fue la dosis alta de glutaraldehído y 0.04% representó la dosis baja, se homogeneizaron durante tres minutos en un homogenizador Silverson L4R® (Silverson Machines Lemeter, Waterside, England); así se obtuvieron cuatro tratamientos con la dosis alta, cuatro con las dosis baja, y cuatro sin adición de glutaraldehído constituyeron el grupo control.

Tasa de solubilidad:

La prueba tasa de solubilidad se realizó en tubos de ensayo de 30 ml con tapa, los cuales se pesaron, tararon y se les adicionó 0.30 g (\pm 0.02 g) de muestra, y 25 ml de agua salada (con las condiciones de salinidad del agua marina), se incubaron a baño María a 29° C (temperatura a la cual se cultivan las larvas) durante tres diferentes periodos de tiempo: 15, 30 y 60 minutos. Posteriormente el contenido de los tubos se filtró mediante un sistema de vacío con papel para filtrado lento (número 40), el líquido colectado se colocó en vasos de precipitados a peso constante, y se deshidrataron en la estufa durante 24 horas, finalmente los vasos se pesaron nuevamente para obtener el peso total de sólidos; como la sal del agua también estaba incluida en los sólidos del vaso, una muestra filtrada de agua salada fue colocada en la estufa para obtener un factor de corrección, siguiendo la metodología de Pedroza y col (35).

Flotabilidad de las microcápsulas:

Para evaluar la flotabilidad de las microcápsulas un gramo de muestra fué colocado en 100 ml de agua destilada, este se dejó reposar durante 10 minutos y se determinó el porcentaje de transmitancia con un espectrofotómetro (Spectronic 20D®, Bausch & Lomb, Rochester, N.Y. U.S.A.) a 390 nm de longitud de onda; antes de realizar las lecturas el espectrofotómetro fue calibrado a 0 con agua destilada.

Aceites superficiales:

En la prueba de aceites superficiales se utilizó la técnica reportada por Beristain (38) adaptada al tipo de aceite contenido en la dieta, pues la técnica está diseñada para aceites volátiles y la dieta empleada en las microcápsulas es rica en aceite no volátiles. A continuación se describe la metodología: en un dedal de celulosa se colocaron 5 g de muestra, este dedal se colocó en el aparato para la extracción de grasa modelo 35001 Goldfish® (Labconco). Previamente se pusieron a peso constante los vasos para dicho aparato, se agregaron 30 ml de hexano en el vaso y se hizo el lavado durante 4 horas continuas a una temperatura de 70° C, posteriormente se colocaron los vasos en la estufa de desecación durante 24 horas y se volvieron a pesar, la diferencia entre el primer peso y el segundo representó el material extraído.

Determinación del tamaño de partícula:

La determinación del tamaño de las partículas se realizó mediante un analizador láser de tamaño de partícula Malvern Instrumenta SB.0D® (Malvern, Worcs., U.K.), utilizando una longitud focal de 63 mm y un oscurecimiento de 0.2 gramos (± 0.005) se obtuvieron las curvas de distribución del tamaño de las microcápsulas (39).

Morfología:

Finalmente, se colocaron las muestras sobre una cinta doble adhesivo (Ted Pella, Redding, C.A.) y se cubrieron con una capa de 150 a 200 Å de carbón en un Sputter JFC 1100® (JEO2 Ltd. Akishima, Japón), para posteriormente mediante un microscopio electrónico de barrido Phillips XL 30® (Alemania) con resolución de 3.5 nm, obtener fotografías y así se determinó qué forma le induce el glutaraldehído a las microcápsulas.

Resultados

Tasa de solubilidad:

En los resultados obtenidos en esta prueba los tres tiempos evaluados (cuadro 4) se observa que a los 15 minutos se obtiene la más baja tasa de solubilidad con la dosis alta de glutaraldehído en la muestra arábica $2/3 : 1/3$ mezquite, seguida por todas las dosis bajas, y solamente se comportó por arriba del testigo la dosis alta en la muestra mezquite 100%. A los 30 minutos el comportamiento de las microcápsulas tratadas fue similar al testigo y solamente a los 60 minutos se observó diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en la dosis alta de glutaraldehído con la muestra arábica $2/3 : 1/3$ mezquite con respecto al testigo. En el análisis de varianza factorial aplicado a la tasa de solubilidad se observó que hubo diferencia significativa ($F_{4,27} = 2.8212$, $P < 0.05$) en la interacción tiempo-tratamiento.

Flotabilidad de las microcápsulas:

En la prueba de flotabilidad de las microcápsulas los resultados obtenidos (cuadro 5) muestran que las microcápsulas de la muestra goma arábica 100% del grupo testigo fueron quienes menor precipitación presentaron, mientras que con las microcápsulas tratadas con la dosis alta fueron quienes más flotaron en relación al testigo. En la mezcla arábica $2/3 : 1/3$ mezquite con ambas dosis de glutaraldehído se observó una menor capacidad de flotación con relación al testigo. Con el uso de mezquite $2/3 : 1/3$ arábica la dosis baja se comportó de igual manera que el testigo, mientras que la dosis alta tuvo mayor precipitación. Por último las encapsuladas con mezquite 100% presentaron resultados similares a las anteriores pues las tratadas con la dosis baja flotan mejor y las tratadas con dosis alta se precipitan con relación al testigo. Sin embargo, no se observó

interacción entre el glutaraldehído y las gomas solas o sus diferentes mezclas ($P=0.2936$), ni diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P=0.5203$).

Aceites superficiales:

En los resultados de la prueba de obtención de aceites superficiales aplicada a las microcápsulas (cuadro 6) se observa que cuando se utilizó goma arábica 100% la cantidad de aceite superficial es superior en los grupos tratados con glutaraldehído en relación al testigo. Al realizar el análisis de varianza no se observó interacción entre los diferentes niveles de glutaraldehído con las gomas solas o sus mezclas así como tampoco diferencia significativa por el efecto simple de las gomas y el glutaraldehído ($P>0.05$).

Determinación del tamaño de partícula:

En la prueba determinación del tamaño de las partículas (cuadro 7) se observó que en las muestras arábica 100%, arábica $2/3, 1/3$ mezquite y mezquite 100% el uso de las dosis alta de glutaraldehído produjo microcápsulas mayores y las tratadas con dosis baja fueron menores en relación al testigo, mientras que en la muestra mezquite $2/3, 1/3$ arábica con ambas dosis el tamaño de las microcápsulas fue superior. No obstante no se observaron diferencias entre las gomas solas o sus mezclas ($P=0.214$). Contrariamente al efecto de los tratamientos con glutaraldehído ($F_{2,6}=5.14$, $P=0.0129$) observándose diferencia significativa entre promedios del tratamiento con dosis alta respecto al testigo (9.1 ± 2.71 ; $P<0.05$)

Morfología:

En la prueba de morfología las muestras presentaron diferencias muy marcadas entre las tratadas con glutaraldehído a dosis alta y las tratadas con dosis baja. Las

tratadas con dosis alta se observaron casi esféricas, mientras que las tratadas con gluataraldehído a dosis baja mostraron una superficie irregular perdiendo su forma globular, sin embargo, las microcápsulas del grupo testigo se observaron heterogéneas, esto es unas se presentaron esféricas y otras irregulares. En ésta prueba no se aplicó método estadístico. (Figuras 2 a 13).

Discusión

Rullán (23) encontró que las microcápsulas de polisacáridos elaboradas para alimentar larvas de camarón, que menos se diluían en medio acuoso, eran las que estaban constituidas por goma arábica mientras que las elaboradas con goma de mezquite fueron las más inestables en el medio, esto debido a la alta solubilidad presentada por ésta goma con respecto a la arábica. Los resultados en el presente trabajo, muestran una disminución de la disolución por efecto de la adición de glutaraldehído, sobre todo durante los primeros 15 minutos de exposición al sistema acuoso, siempre y cuando las microcápsulas estuvieran elaboradas con mezclas de las dos gomas.

Tanto la goma arábica como la de mezquite son macromoléculas polielectrolíticas, es decir que cambian su conformación por efecto del pH. Cabe recordar que la elaboración de las microcápsulas fue en un ambiente ácido, es decir, de pH 4, valor muy cercano al punto isoelectrónico de ambas gomas. De manera natural la goma arábica tiene un pH de aproximadamente 4.5, mientras que la goma de mezquite, de aproximadamente 4.2 (38).

Durante la formación de la microcápsula, ésto es, antes del secado, las macromoléculas de las gomas se colocan en la interfase de las partículas suspendidas y el agua. A pH 4 las moléculas de ambas gomas toman una conformación más o menos esférica y muy compacta, ya que no existen suficientes cargas de repulsión. Se difunden prácticamente a la misma velocidad hacia la interfase, favoreciendo la interacción entre ambas gomas. Como son de diferente peso molecular, el arreglo molecular en la interfase cuando están mezcladas es probablemente más ordenado que cuando actúan de manera independiente (39).

Sin embargo, hasta ahora esta deducción no se ve reflejada en los resultados de disolución de los testigos, así que se hace necesario referir que las propiedades estabilizantes y surfactantes de ambas gomas han sido conferidas a la presencia de fracciones proteínicas que son las que actúan específicamente en la interfase. De ahí la *diferencia inducida por la presencia de un agente modificador de proteínas.*

Por otra parte, se ha informado que la morfología puede jugar un papel en la capacidad de disolución de las microcápsulas, así las tratadas con dosis alta fueron esféricas, lo que favorece que al hidratarse se lisen, con la consecuente lixiviación de los ingredientes, mientras que las tratadas con dosis baja fueron de superficie irregular, y por lo tanto tienen mayor capacidad de expansión al rehidratarse sin lisarse. Lo mismo sucedió con las testigo que no recibieron tratamiento, pues a pesar de presentar una distribución heterogénea, la mayoría fueron de superficie rugosa. Esto coincide con el trabajo realizado por Jones (40), quien utilizó ácido clorhídrico, que también actúa como agente de entrecruzamiento, sus microcápsulas se lisaron en mayor cantidad entre más esférica fuera su superficie, y las que presentaron rugosidades tuvieron mayor permanencia en el agua. Sin embargo Rosemberg y Sheu (41) explican que la presencia de mellas y grietas en la superficie de las microcápsulas se debe a que las microcápsulas se solidifican antes de llevarse a cabo la expansión, lo cual está relacionado con el tamaño de las partículas, las microcápsulas más pequeñas fueron las que recibieron el tratamiento con dosis baja de glutaraldehído, siendo estas mismas las que más grietas y mellas presentaron, seguidas por las del grupo testigo. Mientras que las del grupo tratado con la dosis alta fueron las más grandes y quienes menos rugosidades presentaron.

Ahora, en cuanto a flotabilidad se sabe que las gomas de mezquite y arábica presentan higroscopicidad alta (42), por ello al ponerse en contacto con el agua la atraen y las microcápsulas que forman flotan sin importar que estén tratadas o no con

glutaraldehído, pues este representa una pequeña porción de la pared y es en forma de enlaces entrecruzados, no propiamente como película. Esta prueba se realizó para determinar el sitio donde permanece el alimento, esto debido a que las larvas de camarón se alimentan principalmente en la superficie del agua, posteriormente en el pélagos y rara vez en el bentos (3, 4). Si la microcápsula se conserva flotando en la superficie y a lo largo del pélagos, como sucedió con las elaboradas, sin importar si fueron tratadas o no con glutaraldehído, el alimento será ingerido en mayor cantidad por las larvas que si se precipita hacia el bentos.

Ya se mencionó la presencia de una fracción de proteína en las gomas arábica y de mezquite, que es la responsable de emulsificar los aceites (38). Por ello, fue determinante la presencia de aceite superficial.

Las microcápsulas elaboradas con goma de mezquite sola o mezclada con goma arábica, mostraron en general las mejores propiedades de retención de aceite, a excepción del tratamiento donde la goma arábica estaba en mayor proporción y con la dosis alta de glutaraldehído.

Posiblemente la goma de mezquite empleada en este experimento tuviera un mayor porcentaje de proteína que la goma arábica como lo han sugerido Vernon y cols. (39) y de ahí la diferencia en los resultados.

Cabe mencionar la importancia de bajos contenidos de aceite superficial para evitar su exposición al ambiente y un posible deterioro del alimento. En el caso de la dieta microencapsulada, la fracción grasa que representa alrededor del 8% de la fórmula, esta representada por ácidos grasos poliinsaturados, siendo de primordial importancia para la nutrición de las larvas de camarón los ácidos grasos ω -3 y ω -6. Precisamente estos lípidos de alto grado de insaturación son sumamente reactivos y en presencia de luz y de

oxígeno, sufren reacciones de deteriorización generando compuestos de tipo peróxido las cuales aún en muy bajas concentraciones pueden ser tóxicas para las larvas de camarón (43).

En lo referente al tamaño de las microcápsulas obtenidas tuvieron estos fueron ideales según los requerimientos para larvas de camarón sugeridos por Jones, que van de 10 a 40 μm (16), a pesar de que el uso de glutaraldehído a dosis alta produjo microcápsulas de mayor tamaño, puesto que se observaron esféricas y por lo tanto más grandes; esto se contrapone a lo afirmado por Gardner (44), quien afirma que el tamaño de la microcápsula está ligado con el tamaño de los componentes de la dieta, entre más pequeño sea el ingrediente, más pequeña obtendremos la microcápsula, pero está de acuerdo con Rosenberg (45), quien afirma que entre más melas presente la superficie, menor tamaño presentará la microcápsula. Rullán utilizó en un estudio goma de mezquite, goma de mezquite más maltodextrina y goma arábica para microencapsular un alimento para larvas de camarón, sin embargo encontró que la goma de mezquite con maltodextrina presentaba el tamaño de partícula más pequeño, seguido de la goma arábica y finalmente la goma de mezquite, sin embargo para las necesidades de las larvas no presentó diferencia pues entraban dentro del rango recomendado (23).

Conclusiones

1. El uso de glutaraldehído no alteró la solubilidad de las microcápsulas.
2. El glutaraldehído no interfiere con la higroscopicidad de las gomas y por lo tanto, al entrar las microcápsulas en contacto con el agua flotan.
3. El uso de glutaraldehído no altera la característica de las gomas para formar película, por lo tanto, engloban a los nutrientes y se evita la pérdida por lixiviación.
4. - El glutaraldehído a dosis de 0.4% favorece la formación de microcápsulas de mayor tamaño, y con superficie más lisa.
5. La dosis baja de glutaraldehído favorece el endurecimiento prematuro de las microcápsulas, produciendo microcápsulas más pequeñas y con superficie rugosa.
6. El presente trabajo es solo de carácter experimental *in vitro*, por ello, es necesario hacer pruebas en los animales para determinar la aceptación de las microcápsulas por parte del organismo, así como su digestibilidad, aprovechamiento y posible toxicidad.

Bibliografía:

1. SEMARNAP. Anuario estadístico de pesca, 1995. Secretaría de medio ambiente, Recursos Naturales y pesca 1996; 17-20.
2. Sales Gutiérrez, C. Campeche: Apuntes económicos y sociales. SEDUE 1991; 101-102.
3. Gallo García, C. Camaronicultura. Sin editar 1996; 7-8.
4. Chapa Saldaña, H. La biología y el cultivo de camarones (ensayo de información bibliográfica). Dirección General de Ciencia y Tecnología del Mar, Centro de Experimentación para el Desarrollo de la Formación Tecnológica, sep., 1987; 20-48.
5. Secretaría de Pesca. Cultivo de camarón. Secretaría de Pesca 1994; 9-24.
6. Flores, T.A. Aspectos generales de producción larvaria de camarón. Memorias del Seminario Nacional de Cultivo Larvario de Camarón Peneido. Fideicomiso Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero.
7. Jones, D.A., Holland, D.L. y Jabborie, S. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1984; 275-288.
8. Kirk-Othmer. Microencapsulation. *Encyclopedia of chemical technology* 1984. 3ª Edición. John Wiley and Sons. New York. Vol 15; 44-480.
9. Piedad- Pascual, Cruz, E. Y Sumalangcay, A. Supplemental feeding of *Penaeus monodon* juveniles with diets containing various levels of deffated soybean meal. *Aquaculture* 1991. 89: 183-191.
10. Villamar, D.F. y Brusca, G.J. Survival and growth of *Crangon nigricauda* (Decapoda, Caridea) raised on experimental diets. *J. World Aquaculture Soc.* 1987. 18 (1): 11-25.

11. Villegas, C.T. y Kanazawa, A: Rearing of the larval stage of prawn *Penaeus japonicus* Bate, using artificial diets. Memories of the Kagoshima University Research Center for the South Pacific 1980, Vol. 1, No. 1; 43-49.
12. Robert, R. y Tringignac, P. Substitutes for live microalgae in mariculture: a review. *Aquat. Living Resour.* 1997; 10; 315-327.
13. Cruz A. y Ortega S. La selección del tamaño de las partículas alimenticias por las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Revista de investigaciones marinas* 1989; X (2), 163-174.
14. Chamberlain, G. W. Larval feeds. ASA Technical Bulletin 1988. Vol. 2 A&Q.
15. Jones, D.A., Gabott, P.A. Prospects for the use of microcapsules as food particles for marine particulate feeders. En *microencapsulation 1976*. J.R. Nixon Editor, *Drugs and Pharmaceutical Sciences*. Marcel Dekker, Inc. 3; 77-91.
16. Jones, D.A., Kanazawa, A. Y Rahman, S.A. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 1979. 17; 33-43.
17. Kanazawa, A., Teshima, S., Inamo, S., Sumida, S., Iwasita, T. Rearing of larval red seabream and ayu with Artificial diets. *Mem. Fac. Fish, Kagoshima Univ.* 1982. 31; 185-192.
18. Meyers, S.P. *Feedstuffs*. Londres, Gran Bretaña, 1973; 35-45.
19. Vernon J. *Food Hydrocolloids*. 1987; 86-87.
20. Billmeyer, F. W. *Ciencia de los polímeros*. 2ª Edición Editorial Reverté 1978; 3.
21. Graves, R.E. Uses for microencapsulation in food additives. *Cereal Sc. Today* 1972; 17: 107-109.

22. Rullán, A, Durán de Bazúa, C. Y Pedroza, R. Microencapsulación de biomasa microbiana de plantas de tratamiento de aguas usando sistemas de aspersion con diferentes matrices. Tercer Seminario Internacional de expertos en Tratamientos de Efluentes Industriales y Residuos, Realizado del 3 al 9 de Abril de 1997, Cd. de México.
23. Rullán Bonillas, A. Evaluación preliminar de potencial de la biomasa microbiana, del tratamiento de aguas de nixtamal, como fuente proteínica para alimentos balanceados de larvas de camarón (tesis de licenciatura). México (D.F.) Universidad Iberoamericana, 1993.
24. Kirk-Othmer. Matches to N-nitrosamines. En Encyclopedia of Chemical Technology. 3ª Edición, Vol. 15, John Wiley & Sons Editors, New York, 1981.
25. Thies, C. How to make microcapsules. University of Washington 1986, E.E.U.U.
26. Dziezak, J.D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. Food Technology 1988: 136-151.
27. Masters, K. Spray Drying Handbook. 4ª Edición. John Wiley and Sons 1985. New York.
28. Takenaka, H., Kawashima, Y., Chikamatsu, Y. Y Ando, Y. Mechanical properties dissolution behavior and stability to oxidation of L-Ascorbylmonoesterate microcapsules prepared by a spray drying polycondensation technique. Chem. Pharm. Bull. 1982. 30 (6): 2189-2195.
29. Sankarikutty, B., Skreekumar, M.M., Narayan, C.S. y Mathew, A.G. Studies on microencapsulation of cardamon oil by spray drying technique. J. Food Sci. Technol. 1988. 25 (6): 352-356.

30. Pedroza Islas, R. Estudio teórico sobre la metodología de encapsulamiento de alimentos para el estadio larvario de crustáceos. Informe de estancia sabática. Facultad de Química, UNAM, 1993.
31. López Flores, E. Evaluación de pulpotomías en dientes primarios con formocresol al 1:5 y glutaraldehído al 4% (tesis de licenciatura). Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México, 1988.
32. Ortiz Nieto, S.R. El glutaraldehído una nueva alternativa a los tratamientos pulpares de dientes primarios (tesis de licenciatura). Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México, 1991.
33. Merck Index and encyclopedia of chemical, drugs and biologicals, 1996; 20ª Edición, p.p. 4483.
34. Gaxiola Cortés, M.G. requerimientos nutricionales de las postlarvas de *Penaeus setiferus* y *P. duorarum* (tesis de maestría). Facultad de Ciencias, UNAM. 1994.
35. Pedroza Islas, R. y cols. Microestructura de la pared y características del encapsulado del alimento balanceado para crustáceos con un mezcla de goma de mezquite, arábica y maltodextrina. Aceptado para su publicación en: Estado actual del conocimiento de *Prosoptis* en México. 1997.
36. Luzzi, L.A. y Gerraughty, R.J. Effects of select variables on the extrability of oils from coacervate capsules. *Journal of Pharmaceutical Science* 1964; 53 (4): 429-431.
37. Montgomery, C. D. Diseño y análisis de experimentos. 1ª Edición, De. Iberoamericana; 494-499.

38. Beristain G.C. Estudio de las propiedades termodinámicas de microencapsulados por hidrocoloides naturales obtenidos por secado por aspersión y de la relación con su estabilidad (tesis de doctorado) UAM, 1996; 30.
39. Vernon-Carter, Pedroza-Islas R., Beristain C.I. Stability of Capsicum annum Oleoresin-in-Water Emulsions containing *Prosopis* and *Acacia* Gums. *J. Texture Studies* 1998; 29 (5): 553-568.
40. Jones, D.A. Kurmalı, K. Y arshad, A. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture* 1987. 64: 133-146.
41. Rosemberg M. & Sheu T-Y. Microestructure of Microcapsules Consisting of Whey Proteins and Carbohydrates. *Journal of Food Science* 1998; 63 (3): 491-494.
42. Balke, W.J. The use of natural hidrocolloids as thickeners, stabilizers and emulsifiers. Reporte técnico para Colloide Naturels, Inc. P.O. Box 561, Route 202 Far Hills, New Jersey 07931.
43. Ricque-Marie, D, Cruz-Suarez, L.E., San Martín del Angel, P., Ian-Pike. Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 11 al 13 de Noviembre. 1996; UANL, Monterrey, N.L. México.
44. Garder, G.L. Manufacturing encapsulated products. *Chemical Engineering Progress* 1966; 62 (4); 87-91.
45. Rosenberg, M., Kopelman, I. y Talmon, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. *Journal of Food Science* 1985; 50: 139-144.

Cuadros y Figuras

Ingrediente:	Porcentaje:
Harina de pescado	27.0
Harina de calamar	17.0
Harina de camarón	17.0
Levadura de cerveza	15.0
Harina de soya	14.0
Almidón	1.5
Aceite de hígado de bacalao	2.0
Aceite vegetal	2.0
Colesterol	0.5
Premezcla de vitaminas	0.83
Premezcla de minerales	1.67
Vitamina C	0.5
Lecitina	1.0

**Cuadro 1: Ingredientes de la dieta elaborada para larvas de camarón
Litopenaeus schmitti .**

Esta dieta proporciona 40% de proteína cruda, 12% de carbohidratos, 8.5% de lípidos y 12.5565 kJ (3 kCal/g), de acuerdo con el reporte de Gaxiola. Las premezclas de vitaminas y minerales son de tipo comercial para alimentos de camarón.

	Goma Arábica (%)	Goma de Mezquite (%)
Muestra 1	100	0
Muestra 2	66 ($\frac{2}{3}$)	34 ($\frac{1}{3}$)
Muestra 3	34 ($\frac{1}{3}$)	66 ($\frac{2}{3}$)
Muestra 4	0	100

Cuadro 2: Diseño de mezclas para dos componentes para la preparación de microcápsulas.

	Muestra Árábica 100%	Muestra Árábica $\frac{2}{3} : \frac{1}{3}$ Mezquite	Muestra Mezquite $\frac{2}{3} : \frac{1}{3}$ Árábica	Muestra Mezquite 100%
Velocidad de flujo	10	10	10	5
Temperatura de entrada (°C)	160	160	160	160
Temperatura de salida (°C)	93	93	93	93

**Cuadro 3: Condiciones de operación del Secador Niro-Atomizer Mobil-Minor
® para la realización de microcápsulas.**

Tratamiento con glutaraldehído	Muestra	Tiempo de permanencia en el agua.		
		15'	30'	60'
Dosis baja.	Ar 100%	0.6557 ± 0.0052	0.7752 ± 0.0086	0.6550 ± 0.0152
Dosis baja.	Ar ² / ₃ ; ¹ / ₃ Mez	0.5206 ± 0.004	0.6583 ± 0.0031	0.6841 ± 0.0004
Dosis baja.	Mez ² / ₃ ; ¹ / ₃ Ar	0.5582 ± 0.0033	0.6669 ± 0.0092	0.6569 ± 0.0179
Dosis baja.	Mez 100%	0.5823 ± 0.016	0.7965 ± 0.0124	0.7305 ± 0.0053
Dosis alta	Ar 100%	0.5906 ± 0.0108	0.5668 ± 0.1825	0.8177 ± 0.0183
Dosis alta	Ar ² / ₃ ; ¹ / ₃ Mez	0.4506 ± 0.0017	0.6137 ± 0.0026	1.1046 ± 0.0211
Dosis alta	Mez ² / ₃ ; ¹ / ₃ Ar	0.6325 ± 0.1115	0.7761 ± 0.0102	0.8508 ± 0.0282
Dosis alta	Mez 100%	0.8659 ± 0.0212	0.7880 ± 0.0046	0.9763 ± 0.0199
Testigo	Ar 100%	0.6178 ± 0.0033	0.6623 ± 0.0154	0.6469 ± 0.0039
Testigo	Ar ² / ₃ ; ¹ / ₃ Mez	0.6885 ± 0.0205	0.9409 ± 0.0121	0.7190 ± 0.0297
Testigo	Mez ² / ₃ ; ¹ / ₃ Ar	0.8155 ± 0.0307	0.5640 ± 0.0018	0.8246 ± 0.0014
Testigo	Mez 100%	0.6850 ± 0.0164	0.6779 ± 0.0177	0.6947 ± 0.0165

Cuadro 4: Resultados obtenidos en la prueba tasa de solubilidad (g) a tres tiempos para microcápsulas elaboradas con dos dosis diferentes de glutaraldehído.

Se presentan los promedios y sus desviaciones estándar, pues se realizaron dos observaciones por muestra.

Donde:

g: gramos.

Ar: Goma arábica.

Mez: Goma de mezquite.

Ar ²/₃; ¹/₃ Mez: Combinación de 2/3 de goma arábica con 1/3 de goma de mezquite.

Mez ²/₃; ¹/₃ Ar: Combinación de 2/3 de goma de mezquite con 1/3 de goma arábica.

Tratamiento	Arábigo 100%	Arábigo $\frac{2}{3}$: $\frac{1}{3}$ Mezquite	Mezquite $\frac{2}{3}$: $\frac{1}{3}$ Arábigo	Mezquite 100%
Glutaraldehído dosis baja	0.2	0.05	0.25	0.15
Glutaraldehído dosis alta	0.10	0.16	0.07	0.05
Testigo	0.40	0.01	0.25	0.07

Cuadro 5: Transmitancia obtenida en la prueba flotabilidad aplicada a microcápsulas tratadas con 2 dosis de glutaraldehído.

(n=1)

Tratamiento	Arábica 100%	Arábica $2/3$: $1/3$ Mezquite	Mezquite $2/3$: $1/3$ Arábica	Mezquite 100%
Glutaraldehído dosis baja	0.0030	0.0010	0.0040	0.0040
Glutaraldehído dosis alta	0.0050	0.0060	0.0003	0.0008
Testigo	0.0020	0.0040	0.0030	0.0030

Cuadro 6: Resultados obtenidos en la prueba aceites superficiales aplicada a microcápsulas tratadas con dos dosis de glutaraldehído (gramos de grasa/gramo de muestra).

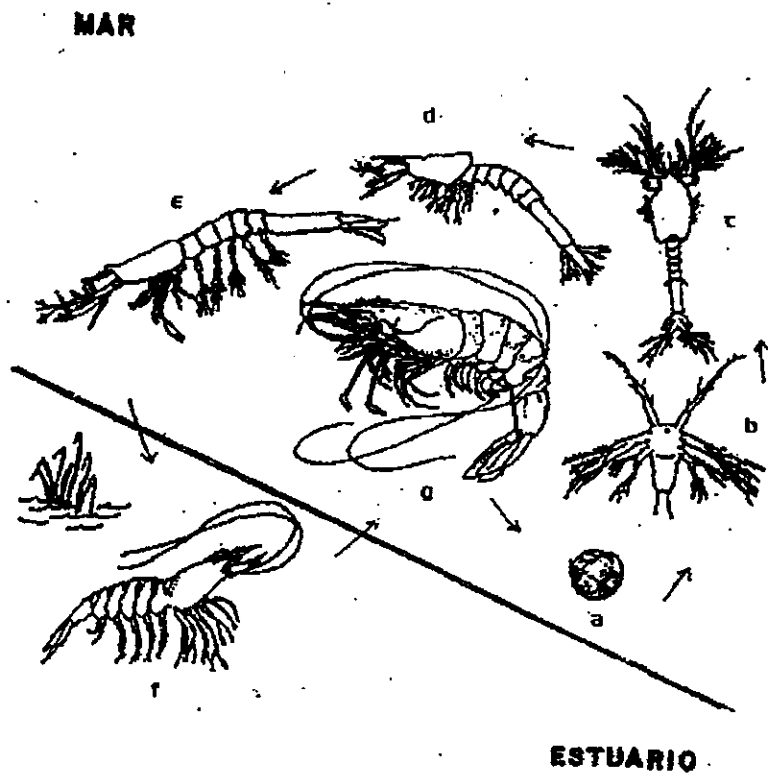
(n=1)

Tratamiento	Arábica 100%	Arábica $2/3$: $1/3$ Mezquite	Mezquite $2/3$: $1/3$ Arábica	Mezquite 100%
Glutaraldehído dosis baja	9.21	8.04	19.75	11.24
Glutaraldehído dosis alta	16.28	19.57	25.26	19.32
Testigo	12.55	9.57	9.83	11.69

Cuadro 7: Resultados obtenidos en la prueba determinación de tamaño de partícula (μm) aplicada a microcápsulas tratadas con dos dosis de glutaraldehído.

(n=1)

Figura 1: Ciclo de vida del camarón según Secretaría de Pesca (5).



Donde:
a: huevo.
b: neuplio.
c: mysis.
d: protozoa.
e: postlarva
f: juvenil.
g: adulto.

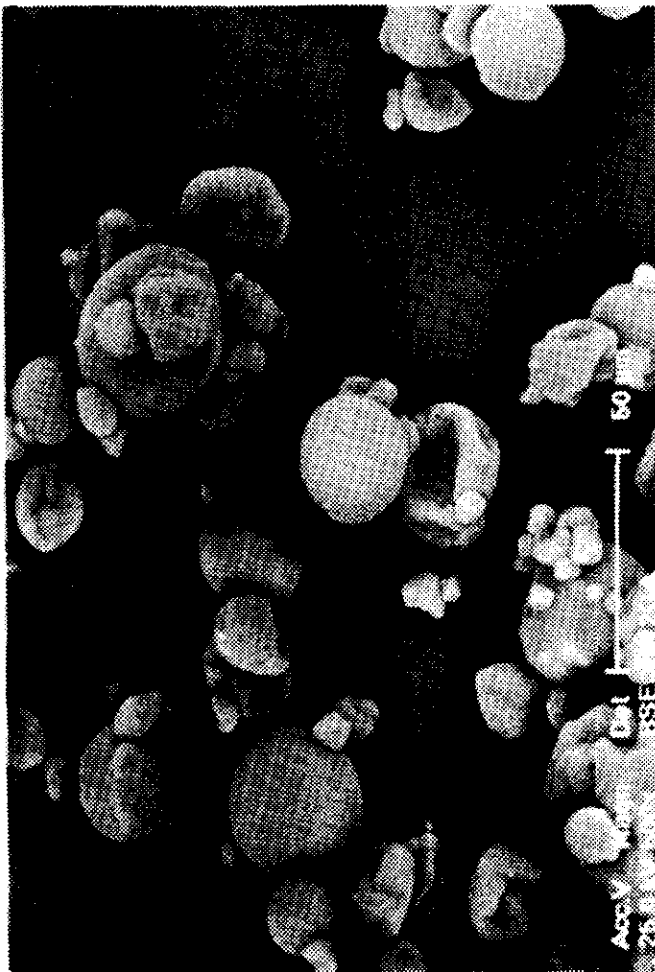


Figura 2: Microcápsulas de la muestra arábica 100% tratadas con glutaraldehído a dosis alta

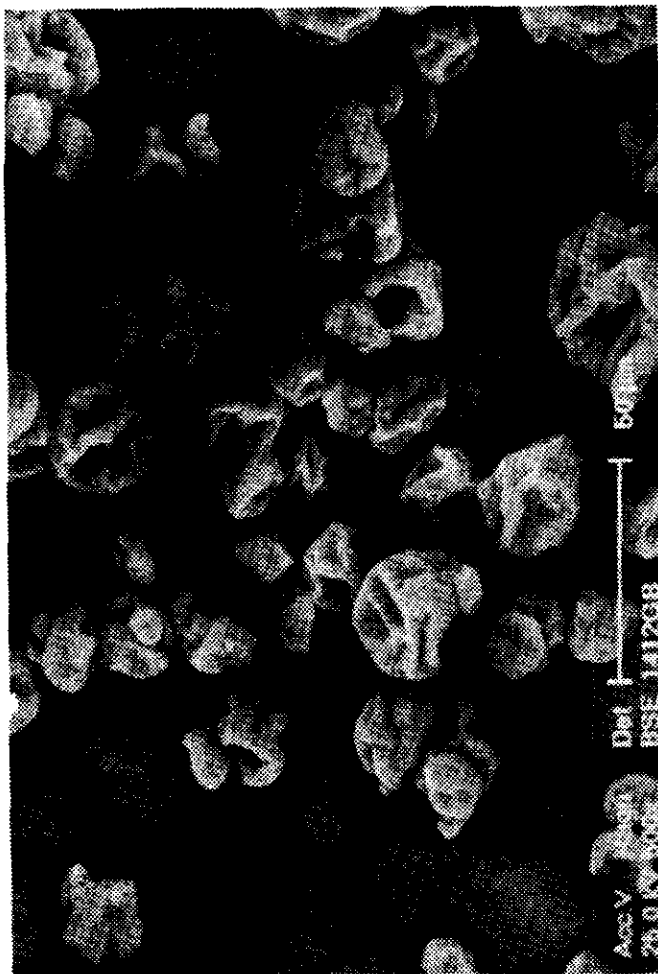


Figura 3: Microcápsulas de la muestra arábica 100% tratadas con glutaraldehído a dosis baja.

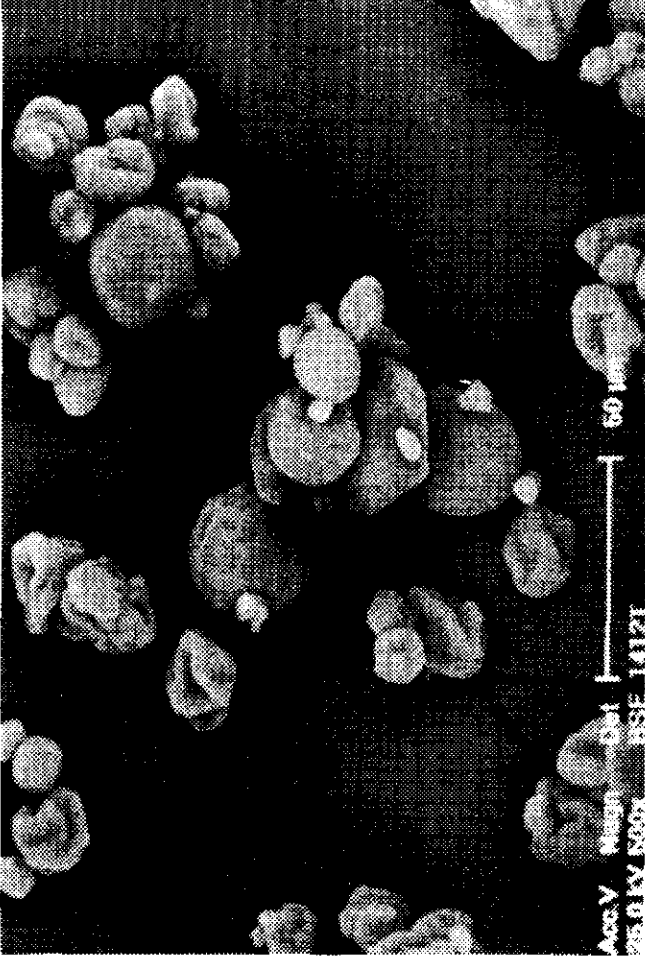


Figura 4: Microcápsulas de la muestra arábica 100% sin tratamiento con glutaraldehído.

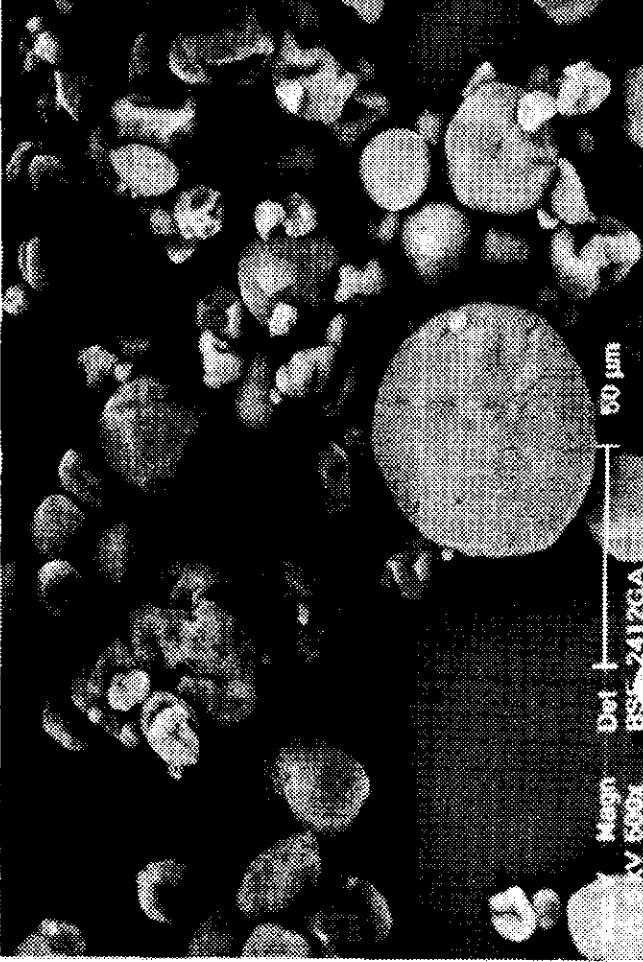


Figura 5: Microcápsulas de la muestra arábica $2/3:1/3$ mezquite tratadas con glutaraldehído a dosis alta.

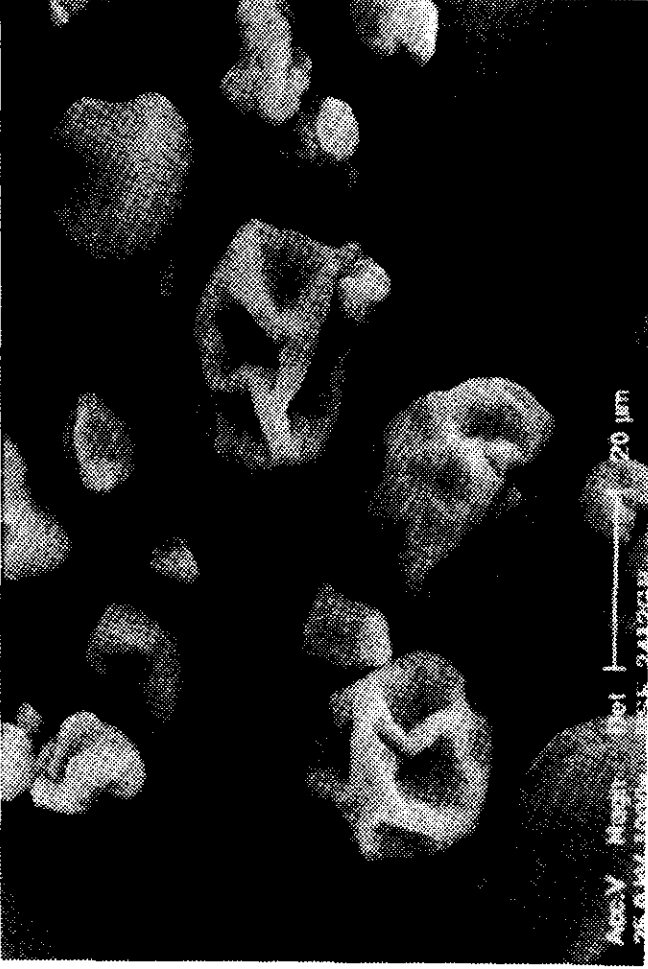


Figura 6: Microcápsulas de la muestra arábigo $2/3:1/3$ -mezquite tratadas con glutaraldehido a dosis baja.

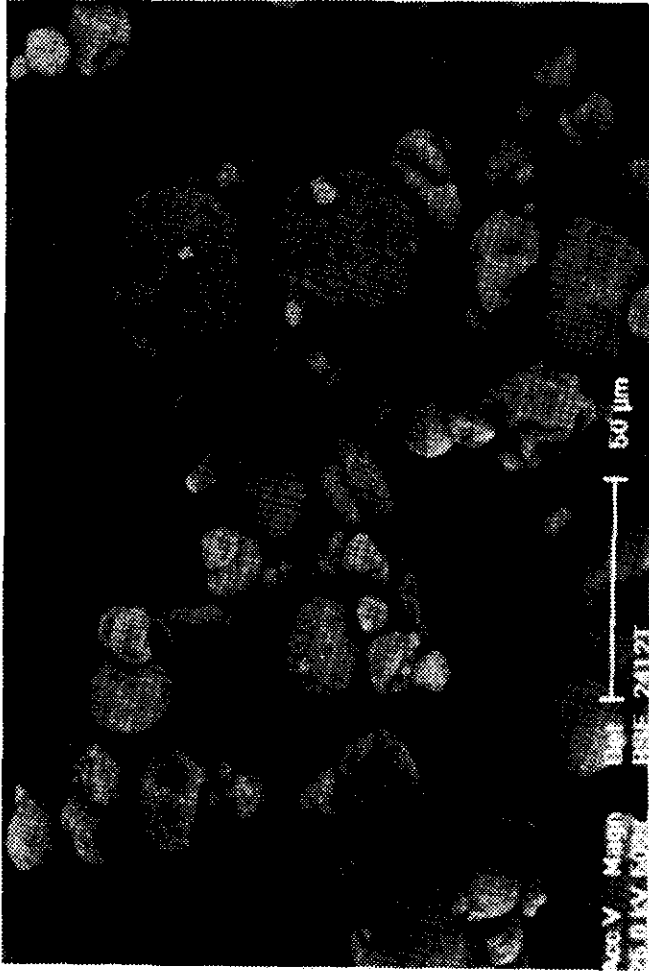


Figura 7: Microcápsulas de la muestra arábica $2/3:1/3$ mezquite sin tratamiento con glutaraldehído

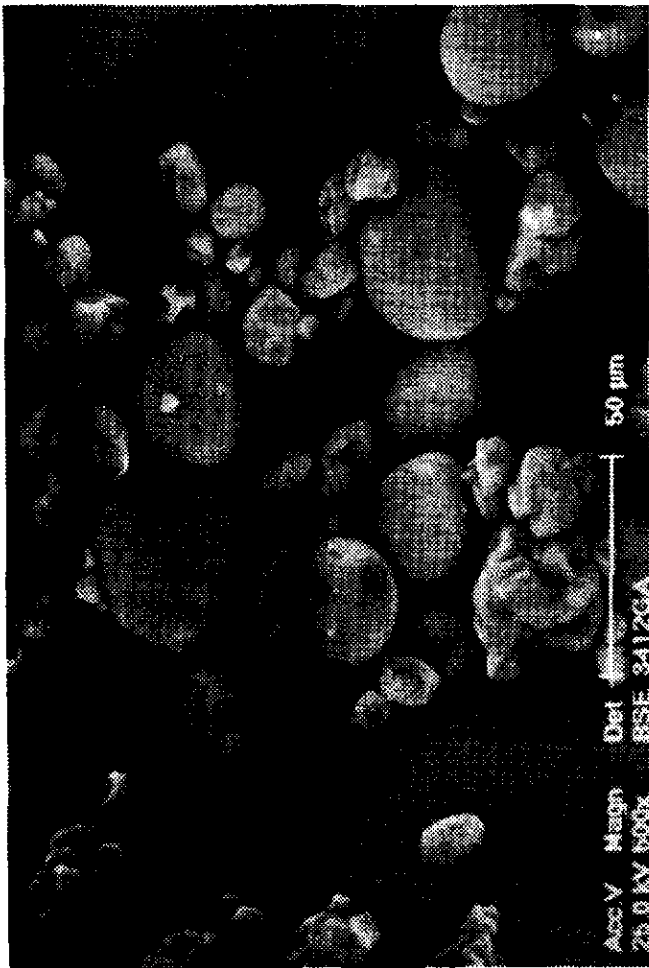


Figura 8: Microcápsulas de la muestra mezquite $2/3:1/3$ arábica tratadas con glutaraldehído a dosis alta.

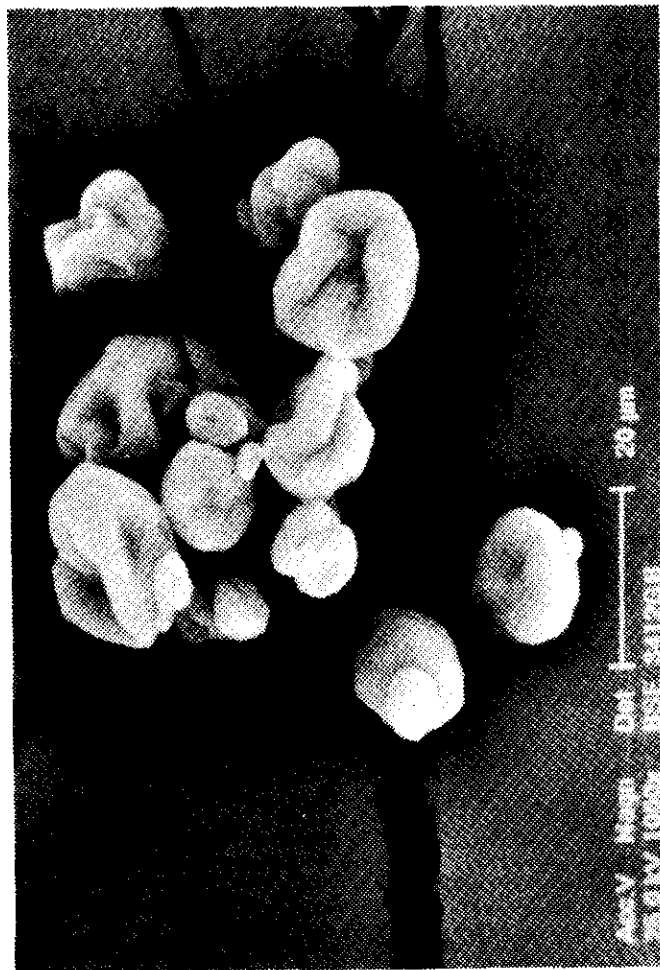


Figura 9: Microcápsulas de la muestra mezquite $2/3 \cdot 1/3$ arábica tratadas con glutaraldehído a dosis baja.

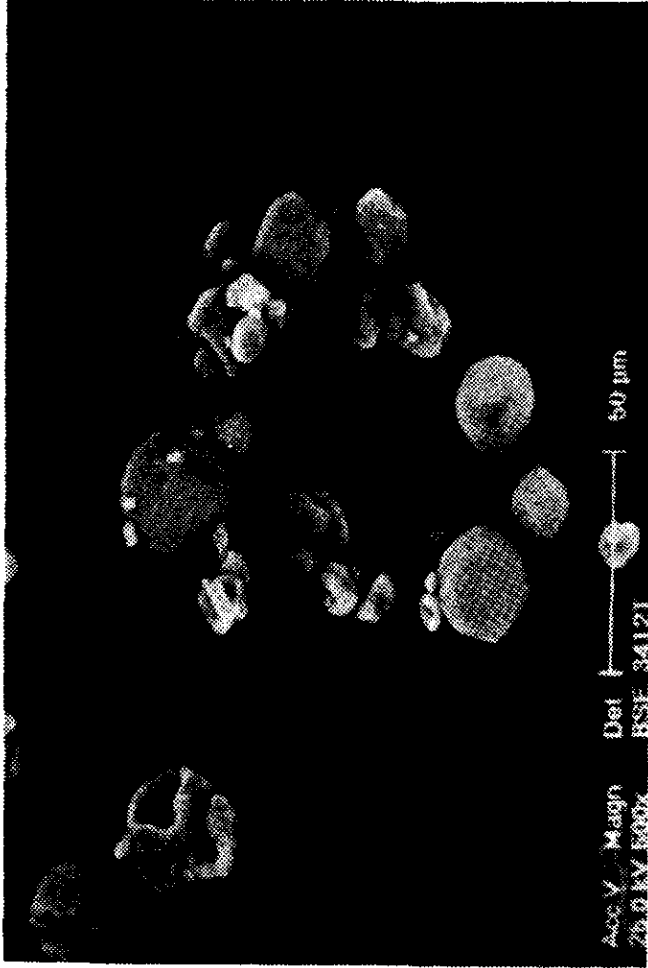


Figura 10: Microcápsulas de la muestra mezquite $2/3:1/3$ arábigo sin tratamiento con glutaraldehído.

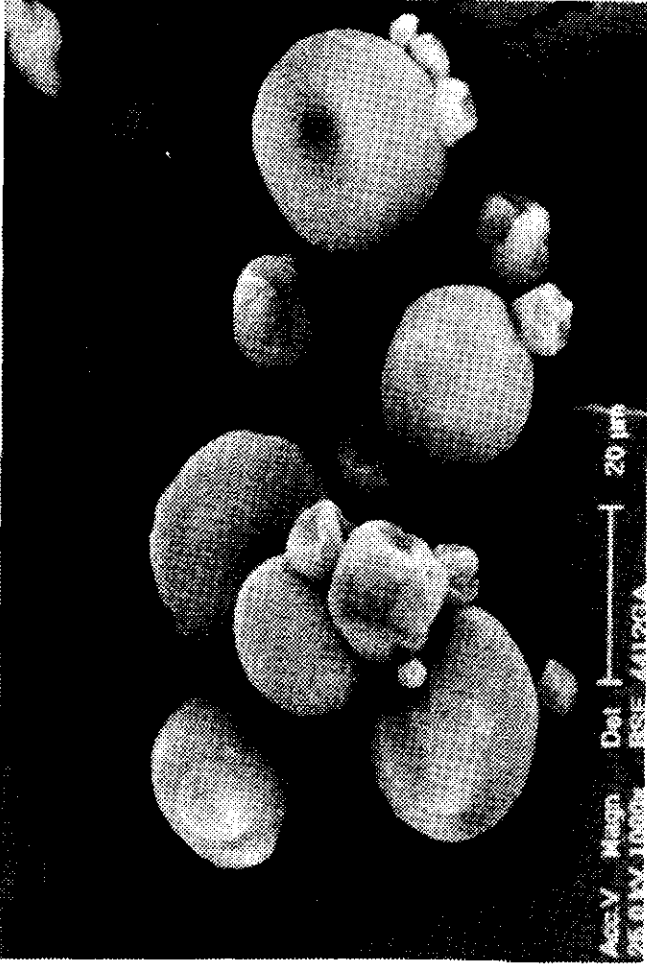


Figura 11: Microcápsulas de la muestra mezquite 100% tratadas con glutaraldehído a dosis alta.

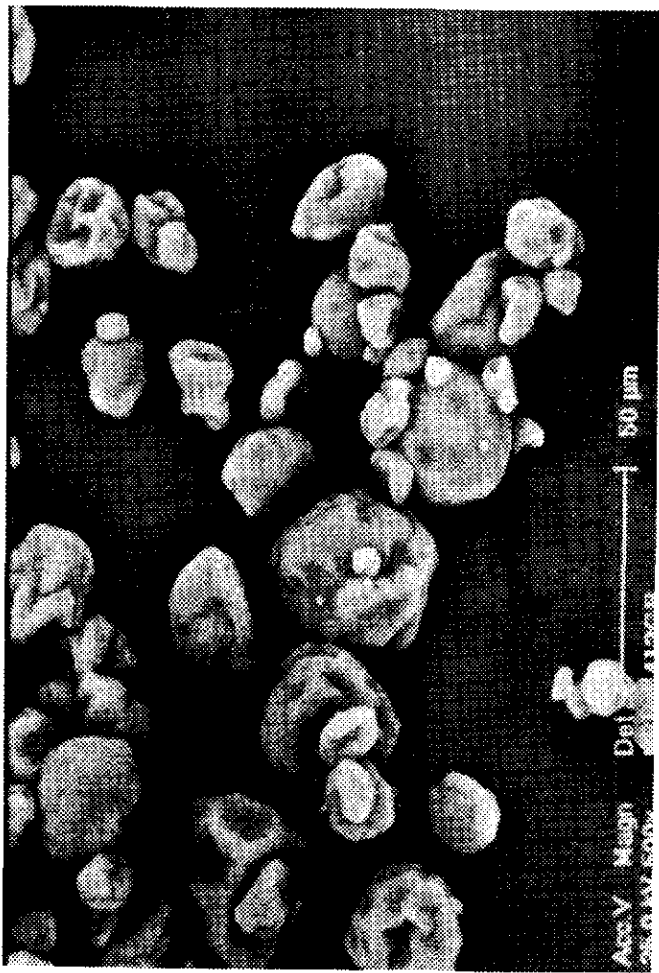


Figura 12: Microcápsulas de la muestra mezquite 100% tratadas con glutaraldehído a dosis baja.

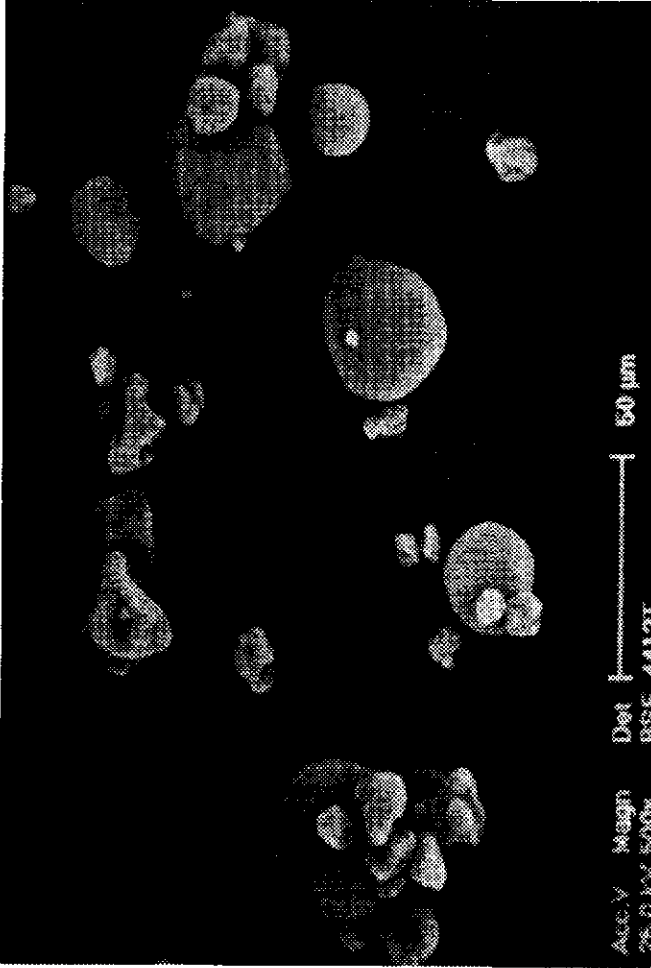


Figura 13: Microcápsulas de la muestra mezquite 100% sin tratamiento con glutaraldehído.