

---

## Caracterización del contenido de ácidos grasos en *Artemia franciscana* procedente de la bahía de Yavaros, Sonora, México, alimentada con dietas inertes

J.de J. Balderas-Cortés<sup>1\*</sup>, F. Lares-Villa<sup>1</sup>, H. Sandoval-Trujillo<sup>2</sup>, L. E. Gassos-Ortega<sup>1</sup>, L. Castro-Espinoza<sup>1</sup>, M. M. Meza-Montenegro<sup>1</sup>, P. Gortáez-Moroyoqui<sup>1</sup> e I. Mondaca-Fernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, Colonia Centro, Cd. Obregón, Sonora, C.P. 85000.

<sup>2</sup>División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México, D.F.

Recibido 12 Agosto 2008, Revisado 12 Septiembre 2008, Aceptado 30 Septiembre 2008

---

*Fatty acids characterization in Artemia franciscana from the Yavaros Bay, Sonora, Mexico, fed with inert diets*

### Abstract

The supply of living food for marine cultivated organisms is a serious problem in Mexico. Several studies about fatty acids performed on the *Artemia franciscana* refer to six as the essential fatty acids for fish and crustaceans' nutrition (16:0; 16:1; 18:1; 18:2 $\omega$ 6; 18:3 $\omega$ 3 y 20:5 $\omega$ 3). The presence of these fatty acids in *Artemia* depends greatly on the type of feeding supplied. This paper analyzed the nutritional quality of *Artemia franciscana* from Yavaros Bay, Sonora, Mexico supplied with three inert diets: *Spirulina*, soy's flour and rice's flour, in order to characterize the fatty acid composition in *Artemia*. Triplicate analyses were performed in order to determine fatty acids profiles. The total lipids were extracted by the soxhlet method. The metallic esters were injected in a chromatograph of gases (Varian Star 3380CP), equipped with a capillary column DB-23 de 30 mx 0.53 mm. The results, equivalent to the concentrations, were recorded as percentages. *Artemia* have not all the essential fatty acids required by marine cultivated organisms. *Artemia* has a deficiency in fatty acids,  $\alpha$ -linolenic (C18:3 $\omega$ 3), linolenic (C18:2 $\omega$ 6), eicosapentaenoic (C20:5 $\omega$ 3) y decosahexaenoic (C22:6 $\omega$ 3). The largest percentage of fatty acids in its composition corresponded to oleic (C18:1), typical of the hypersaline water populations. A viable alternative for the improvement of *Artemia* nutritional quality is through the enrichment of fatty acids.

*Keywords:* *Artemia franciscana*, fatty acids, animal nutrition, aquaculture.

### Resumen

El suministro de alimento vivo para la nutrición de organismos marinos bajo condiciones de cultivo es un problema serio en nuestro país. Diversos estudios realizados sobre los ácidos grasos en las poblaciones de *Artemia franciscana* señalan a seis de ellos como esenciales para la nutrición de peces y crustáceos (16:0; 16:1; 18:1; 18:2 $\omega$ 6; 18:3 $\omega$ 3 y 20:5 $\omega$ 3). La presencia de estos en *Artemia*, depende en gran medida del tipo de alimentación suministrada. El presente trabajo analiza la calidad nutricional de *Artemia franciscana* procedente de la bahía de Yavaros, Son., alimentada con tres dietas inertes; *Spirulina*, harina de soya y harina de arroz, con la intención de caracterizar la composición de ácidos grasos presentes en ella. Se realizaron análisis por triplicado para la determinación del perfil de ácidos grasos. Se extrajeron los lípidos totales por el método soxhlet. Los esterios metílicos fueron inyectados en un cromatógrafo de gases (Varian Star 3380CP) equipado con una columna capilar DB-23 de 30 mx 0.53 mm. Los resultados correspondientes a las concentraciones, se expresaron en porcentajes. *Artemia* no presenta todos los ácidos grasos esenciales requeridos por la acuicultura, teniendo deficiencia en el  $\alpha$ -linolénico (C18:3 $\omega$ 3), linolénico (C18:2 $\omega$ 6),

---

\* Autor de correspondencia

E-mail: jbalder@itson.mx; Tel. 6444109010 ext. 129

eicosapentaenoico (C20:5 $\omega$ 3) y docosahexaenoico (C22:6 $\omega$ 3). El mayor porcentaje encontrado dentro de su composición corresponde al oleico (C18:1), típico de las poblaciones epicontinentales. Una alternativa viable para el mejoramiento de su calidad nutricional, es a través del uso de técnicas de enriquecimiento.

*Palabras clave:* *Artemia franciscana*, ácidos grasos, nutrición animal, acuicultura.

## Introducción

En los últimos años, la producción de organismos acuáticos por medio de la acuicultura se ha incrementado en México y el mundo. Evidentemente, al ser un rubro productivo que maneja grandes cantidades de organismos por superficie, surgen problemas de alimentación y de sanidad inherentes a esta actividad. Actualmente, numerosos estudios están encaminados a proporcionar nuevas técnicas y métodos que ayuden a la obtención de alimentos de buena calidad nutritiva y sin enfermedades (Castro *et al.*, 2006).

*Artemia franciscana* es un pequeño anostrácodo que habita los cuerpos de agua hipersalinos del sur del estado de Sonora, México y es la principal fuente de alimento en las etapas larvianas de cultivos larvarios marinos. Desde el punto de vista nutricional, *Artemia* posee una digestibilidad elevada que cubre la mayoría de los requerimientos nutricionales en macro y micronutrientes. Sin embargo, a causa de la diversidad existente entre las diferentes cepas comerciales se ha detectado variabilidad en su valor nutritivo.

La relación directa que guarda *Artemia* con el alimento suministrado bajo condiciones de cultivo tiene que ver con su valor nutricional. Uno de los aspectos más importante para el sector acuícola es que las dietas repercutan en el crecimiento, reproducción, supervivencia y estado de salud de sus comensales. En este sentido, la diversidad de alternativas dietarias en *Artemia* es requerida.

Uno de los factores que destaca la importancia del valor nutricional de *Artemia*, radica en la composición de ácidos grasos altamente insaturados de la serie  $\omega$  3 (PUFA  $\omega$ 3). En organismos marinos de importancia comercial, se tienen identificados ácidos grasos de cadena larga (mayor o igual a 20 carbonos) importantes en la constitución de las biomembranas, en el desarrollo normal de las estructuras nerviosas y de la visión en estadios larvarios. De los ácidos grasos esenciales, destacan el docosahexaenoico (DHA o 22:6  $\omega$  3) y el

eicosapentaenoico (EPA o 20:5 $\omega$ 3), ya que forman parte de la estructura de fosfolípidos y glucolípidos que constituyen a las células (Robin, 1995). Estudios elaborados por Malpica *et al.* (2004), enfatizan su importancia en la estructuración de moléculas combustibles, además de que algunos de sus derivados actúan como hormonas ó mensajeros que intervienen en procesos de almacenamiento y transporte de combustible catabólico y en los fenómenos de permeabilidad en las membranas. En *Artemia*, el perfil de ácidos grasos PUFA  $\omega$ 3 varía de población a población, debido fundamentalmente al origen de la cepa y a la alimentación suministrada. Un perfil de ácidos grasos deficiente puede ser insuficiente para mantener un buen crecimiento y sobrevivencia de las larvas de organismos marinos bajo cultivo, por lo que actualmente se han desarrollado técnicas para su enriquecimiento por medio de la bioencapsulación de componentes esenciales. En la literatura especializada se puede encontrar diferencias significativas de ácidos grasos en las cepas que provienen de origen marino, y las de origen continental, favoreciendo en cantidad y calidad a las primeras.

Watanabe *et al.* (1980), describen diversos estudios realizados sobre los ácidos grasos en las poblaciones de *Artemia*, señalado la presencia de seis de ellos considerados por la acuicultura como esenciales para el desarrollo de peces y crustáceos (16:0; 16:1; 18:1; 18:2  $\omega$ 6; 18:3  $\omega$ 3 y 20:5  $\omega$ 3).

Por la importancia que requiere el conocimiento de la composición de ácidos grasos en las poblaciones naturales de *Artemia franciscana* en el Estado de Sonora, se hace necesario realizar estudios encaminados a su identificación con la intención de incrementar los valores nutritivos de las especies marinas bajo condiciones de cultivo en la región.

## Material y Métodos

Los individuos de *Artemia* se colectaron en estanques de evaporación solar de la salina "Tres

Hermanos”, ubicada en la localidad de Yavaros al sur del estado de Sonora, México, a los 26° 40' latitud norte y a 109° 50' longitud oeste (Fig. 1). El clima del área se clasifica como seco cálido (clasificación de Köppen modificada por García (1973). La temperatura ambiente promedio oscila entre 16.7°C a 31.3°C. La salina tiene una extensión aproximada de 10 has, conformada por 5 vasos evaporadores de diferentes dimensiones. El suelo de la salina es principalmente arenoso con acumulación de arcilla y carbonato de calcio.

Los quistes fueron almacenados en frascos de vidrio de 1.0 l con salmuera a 300g de NaCl l<sup>-1</sup>. Se emplearon 3 dietas experimentales inertes (*Spirulina*, harina de arroz y harina de soya) a las que se les realizaron análisis proximales siguiendo el método A.O.A.C.

Los animales se desarrollaron hasta una etapa pre-adulta de 14 días de nacidos. Se mantuvieron en una talla mediana de 4.0±0.02 mm ind.<sup>-1</sup> y un peso de 9.4±0.3 mg, separados mediante un proceso de tamizado utilizando una luz de malla de 0.5 mm.

La fase experimental tuvo su inicio con el pesado de los animales en una balanza analítica (Mettler H8 de 160 g de capacidad) a razón de 5 g de biomasa de *Artemia* adulta por cada medio litro de

agua preparada (5g de biomasa de *Artemia* pre-adulta equivale a 534 individuos, aproximadamente). Se emplearon 20 réplicas para cada alimento utilizando frascos de cristal (500 ml de capacidad) de boca ancha y tapadera plástica con rosca. El agua de mar que se utilizó en el laboratorio para todos los experimento, se preparó siguiendo los criterios de Kramer y Wiedermann (Stein, 1973).

El alimento suministrado fue previamente licuado y filtrado a través de una malla de 40 micras aplicando este a saciedad (aproximadamente 500,000 cel ml<sup>-1</sup>), hasta que el medio alcanzó su saturación. Esto con la finalidad de que ningún organismo se quedara sin comer.

Posteriormente, se procedió a realizar un reflujó total de agua y se recolectaron los remanentes de alimento de cada frasco mediante un sistema de recambio total con una manguera de plástico de ¼ de pulgada y 1 m de longitud, la cual fue obstruida en su parte exterior por una malla de fitoplancton y 40 micras de peso conocido.

La determinación de ácidos grasos, inició con la extracción por triplicado de los lípidos en una muestra de biomasa de *Artemia* utilizando la técnica Soxhlet y se sometida a una metanólisis



Figura 1. Salina Tres Hermanos ubicada en el Puerto de Yavaros, Sonora, México.

ácida, siguiendo el criterio descrito por Minnikin *et al.*, (1980). Se separó una mezcla de metanol-tolueno-ácido sulfúrico en proporciones 30:15:1. De ella se tomó 1.0 ml y se adicionó a la muestra de lípidos previamente colocada en un tubo de cristal marca Pirex con rosca y tapadera, sellándola con cinta de teflón (Pulvitec). El tubo con la muestra se calentó en una estufa (Oven 9000) a 75-80°C durante 16 h. Posteriormente, se dejó enfriar y se le agregó 1 ml de hexano, se homogenizó y una vez separadas las dos capas, se extrajo la superior con una pipeta Pasteur de 5 pulgadas. El líquido se paso a través de una mini columna de carbonato de amonio. Posteriormente la mezcla se recuperó en tubos Eppendorf (1.5 ml) para su posterior inyección en el cromatógrafo de gases (González, 2001).

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron inyectados en un cromatógrafo de gas (Varian Star

3380 CP) equipado con una columna capilar DB-23 de 30 mx 0.53 mm. El gas Helio se utilizó como eluyente. La temperatura del inyector fue de 170°C y la del detector de 300°C con un rango de 11°C. Para identificar los ácidos grasos se utilizó un estándar Supelco™ 37 component FAME Mix. Los perfiles de ácidos grasos fueron obtenidos en valores porcentuales y los análisis se realizaron en los laboratorios de Producción de Biológicos del Departamento de Sistemas Biológicos y Aprovechamiento de los Recursos Naturales Acuáticos del Departamento El Hombre y su Ambiente, ambos en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, en la Ciudad de México.

### Resultados y discusión

En la figura 2 se presenta la composición

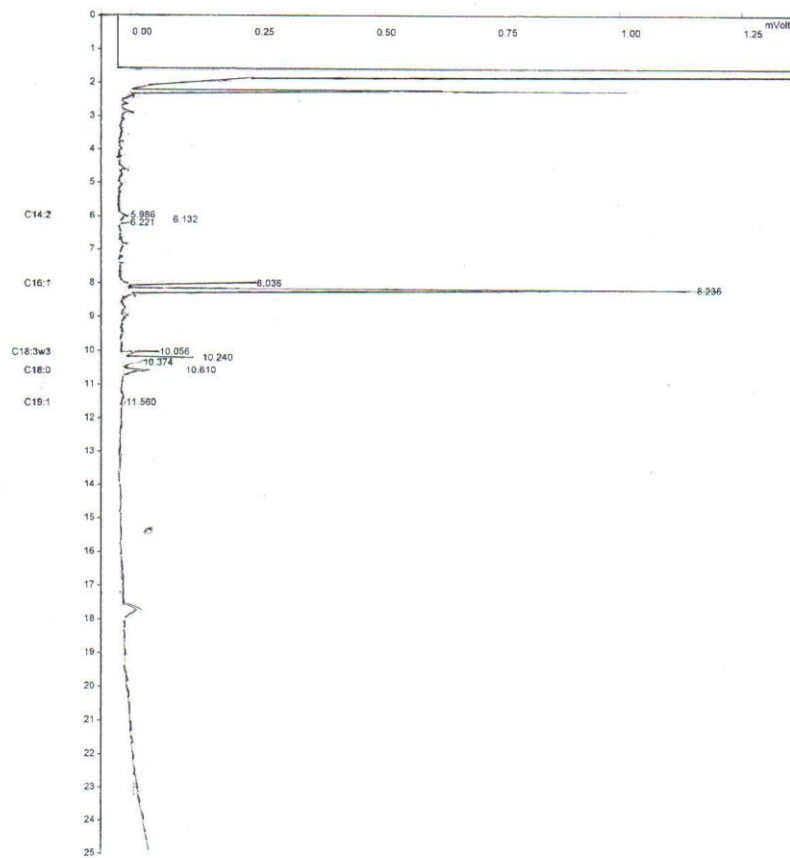


Figura 2. Cromatograma de ácidos grasos de *Artemia franciscana* perteneciente a una población silvestre de Yavaros, Son., alimentada con *Spirulina*.

porcentual de ácidos grasos de *Artemia franciscana* obtenida de la población de Yavaros, Sonora, alimentada con *Spirulina*. Se puede observar la presencia de cuatro picos porcentuales significativos destacando el oleico (42.0%), palmítico (14.87%),  $\gamma$ -linolénico (11.93%) y esteárico (11.09%), los cuales en suma conformaron el 79.89% del perfil de *Artemia*. En la figura 3 se aprecian tres picos característicos para *Artemia* alimentada con harina de soya, estos son: oleico (42.35%),  $\gamma$ -linolénico (35.95%), palmítico (12.11%) y esteárico (6.25%) para un total de 96.66% en su estructura. Finalmente, en la figura 4 aparecen los ácidos grasos incorporados cuando *Artemia* fue alimentada con harina de arroz. Los puntos más altos se manifiestan en los ácidos grasos oleico (35.38%), palmítico (19.97%), linolénico

(15.46%),  $\gamma$ -linolénico (8.81%) y esteárico (8.81%), contabilizando el 88.43% de su formulación.

En la tabla 1 se puede apreciar comparativamente las concentraciones porcentuales totales de ácidos grasos en *Artemia franciscana*, proporcionados por cada dieta.

De los ácidos grasos requeridos por la acuicultura (linoleico (18:2 $\omega$ 6),  $\alpha$ -linolénico (18:3 $\omega$ 3), eicosapentaenoico (20:5 $\omega$ 3) y docosahexaenoico (22:6 $\omega$ 3)), se encontró en este estudio una pobre presencia de algunos de ellos. *Artemia* alimentada con *Spirulina* incorporó dos de los cuatro ácidos grasos esenciales; el  $\alpha$ -linolénico (18:3 $\omega$ 3) con una concentración de 11.93% y el eicosapentaenoico (20:5 $\omega$ 3) con un 5.19%. De la misma forma, *Artemia* alimentada con soya presentó dos ácidos

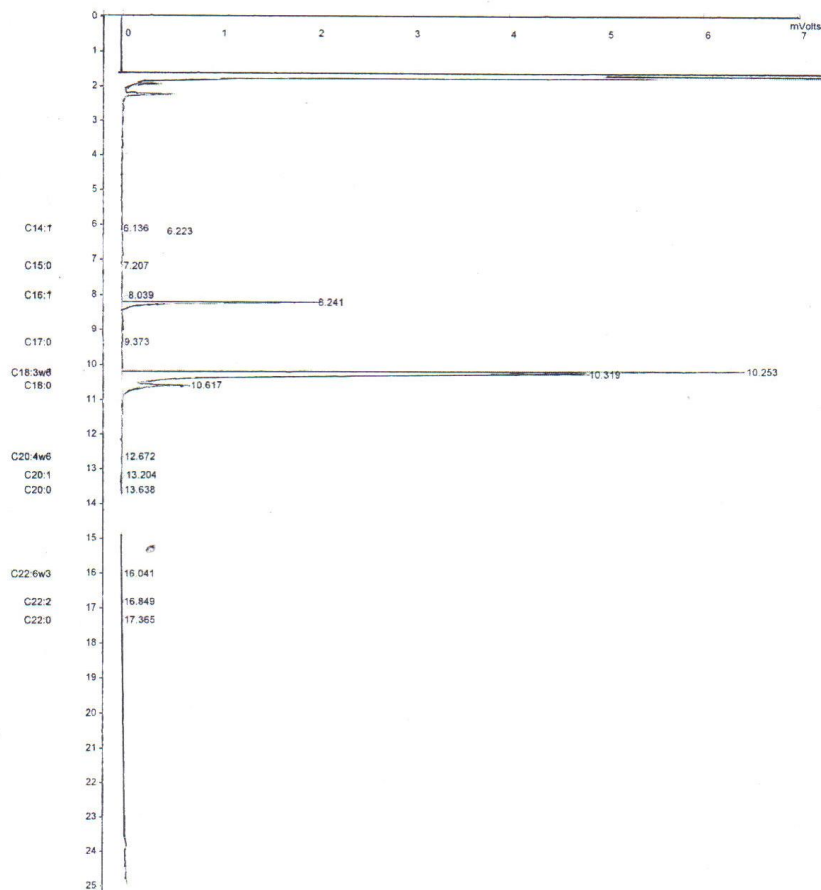


Figura 3. Cromatograma de ácidos grasos de *Artemia franciscana* perteneciente a una población silvestre de Yavaros, Son., alimentada con harina de soya.

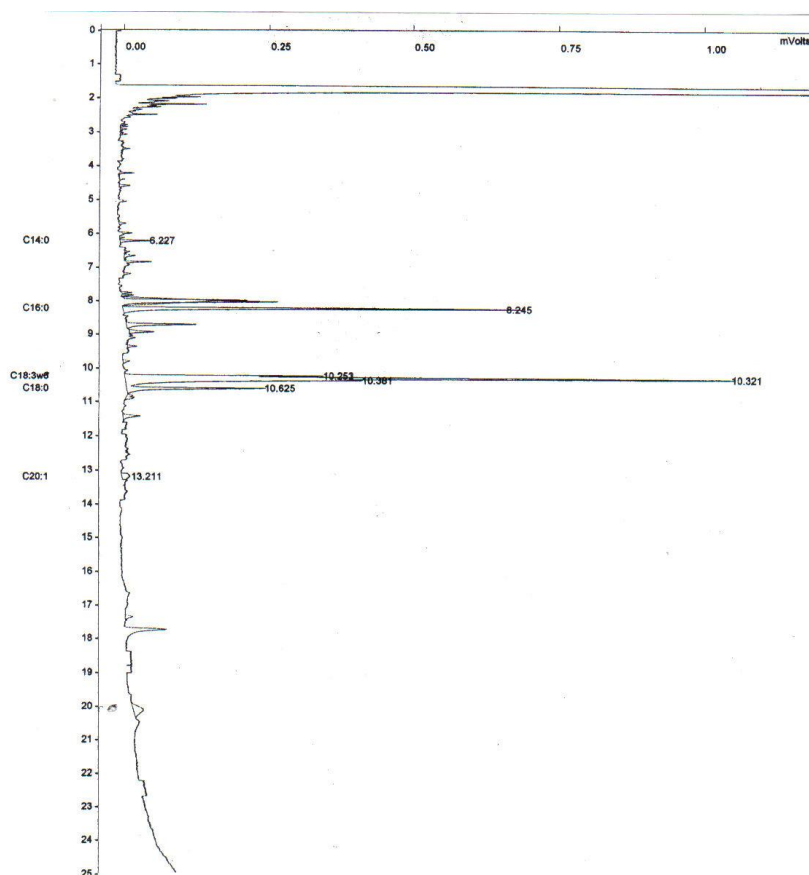


Figura 4. Cromatograma de ácidos grasos de *Artemia franciscana* perteneciente a una población silvestre de Yavaros, Son., alimentada con harina de arroz.

Tabla 1. Contenido promedio de ácidos grasos en *Artemia franciscana* después de ser alimentados con tres dietas inertes.

Ácidos grasos	Nombre	<i>Spirulina</i>	Harina de soya	Harina de arroz
C14:0	Mirístico	0.71	0.30	1.20
C14:1	Miristoleico		0.03	
C15:0	Pentadecanoico	0.35	0.06	
C16:0	Palmitico	14.87	12.11	19.97
C16:1	Palmitoléxico	4.37	0.40	
C17:0	Heptadecanoico	0.83	0.10	
C18:3ω3	α-Linolénico	0.77		
C18:3ω6	γ-Linolénico	11.93	35.95	8.81
C18:0	Estéarico	11.09	6.25	8.81
C18:1	Oleico	42.00	42.35	35.38
C18:2ω6	Linoleico			15.46
C20:4ω6	Araquidónico		0.14	
C20:0	Araquídico		0.22	
C20:1	Eicosenoico		0.37	1.25
C20:5ω3	Eicosapentenoico	5.19		
C22:0	Behénico	0.48	0.20	
C22:2	Docosadienoico		0.18	
C22:6ω3	Docosahexaenoico		0.11	

esenciales, el  $\alpha$ -linolénico (18:3 $\omega$ 3) con 35.95% y el docosahexaenoico (22:6 $\omega$ 3) con 0.18 %, en mínima cantidad. Con harina de arroz se encontró 15.46% de linoleico (18:2 $\omega$ 6) y 8.81% de  $\alpha$ -linolénico (18:3 $\omega$ 3). De las dietas anteriores ninguna proporcionó en *Artemia* las cantidades suficientes que requiere el productor de larvas en condiciones de cultivo, sin embargo, la harina de soya provee una mejor proporción en cuanto a la diversidad de ácidos grasos analizados con un total de 15 de ellas. Este aspecto pudiese ser útil en la alimentación de organismos dulceacuícolas.

La mayor concentración de ácidos grasos correspondió al oleico (C18:1) con valores de 35.38% en el caso de la harina de arroz y 42% en las otras dos dietas.

Existen dos criterios de clasificación dependiendo del contenido de ácidos grasos en *Artemia*: el llamado dulceacuícola que considera altos niveles de ácido  $\alpha$ -linolénico (18:3 $\omega$ 3), especial para alimentar peces de agua dulce; y el de tipo marino, con elevadas concentraciones de ácido eicosapentaenoico (20:5 $\omega$ 3) (González, 2001; Navarro et al., 1993).

Al carecer en este estudio de ingredientes de origen marino en las dietas, *Artemia* presentó las características nutricionales de un organismo epicontinental, manifestadas en la ausencia de algunos ácidos grasos esenciales. Estudios con otras variedades de *Artemia* en cuerpos de aguas interiores reportaron composiciones químicas similares a las presentadas en este estudio (Malpica et al., 2004). Más sin embargo, se conoce que algunos crustáceos pueden convertir el 18:3 $\omega$ 3 en 20:5 $\omega$ 3 y 22:6 $\omega$ 3, demostrando que el metabolismo es más eficiente que en el caso de peces para la síntesis de estos compuestos.

Desgraciadamente, el proceso de bioconversión no presenta el rendimiento suficiente para satisfacer las necesidades que requiere la acuicultura con respecto a los dos ácidos grasos mencionados. Según Van Stappen (1996) las poblaciones de *Artemia* difieren en la composición de ácidos grasos entre una población y otra. Todas las cepas de *Artemia franciscana* contienen ácido linolénico, pero no todas eicosapentaenoico, y ninguna contiene docosahexaenoico más que en trazas (Navarro et al., 1993). Resultados adicionales indican que a partir del acetato de sodio se pueden sintetizar diferentes ácidos grasos, corroborando la presencia

de estos lípidos en su estado naupliar.

Cabeza et al. (1995) reportan la capacidad en *Artemia* para sintetizar lípidos polares y ácidos grasos, entre ellos, el 20:5n-3 y 22:6n-3 a partir de dietas suministradas. Aparentemente, el acetato de sodio marcado con C14 forma la acetil CoA en los tejidos. Este compuesto se transforma más tarde en ácidos grasos a través de diferentes reacciones bioquímicas en las que intervienen numerosas enzimas (Jeffcoat, 1997). Los resultados también indican que *Artemia* en el estado naupliar sintetiza fosfolípidos, colesterol, diacilglicerol, ácidos grasos y ésteres de colesterol a partir de acetato de sodio, demostrando la presencia de complejos enzimáticos presentes estudiados para otras especies.

## Conclusiones

La acuicultura enfrenta un reto importante en cuanto al suministro de alimentos de alta calidad nutricional que el productor requiere para satisfacer sus necesidades de producción. El presente estudio recalca la necesidad de encontrar estrategias alimenticias que coadyuven al mantenimiento de una producción sostenida. Lo anterior nos permite inferir sobre la importancia del alimento en la calidad nutricional de *Artemia* si esta fuera llevada a condiciones de cultivo comercial. Estudios realizados nos hacen pensar que la conformación bioquímica de *Artemia* en cuanto a su estructura y porcentajes de ácidos grasos, están directamente relacionados con el alimento consumido. Sin embargo, una alternativa pudiera darse mejorando su calidad nutricional mediante el enriquecimiento, suministrándole los ácidos grasos esenciales que han sido incapaces de incorporarse en el organismo a través de su alimentación.

## Bibliografía

- Cabeza, M., Vilchis, F., Lemus, A.E., Díaz de León, L., y Pérez-Palacios, G., 1995. Molecular interactions of levonorgestrel and its 5-alpha reduced derivative with androgen receptors in hamster flanking organs. *Steroids*. 60: 630-635.
- Castro, J., Castro, T., Sánchez, J., Castro, G. y Castro, A., 2006. Características biométricas de quistes y nauplios de siete poblaciones de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) de México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 41(2): 187-193.
- García, E., 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de köppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 2a ed. México, Universidad Nacional Autónoma de México. 559 p.

- González, A., 2001. Valor nutritivo de nauplios de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) en diferentes poblaciones mexicanas con base en el contenido de lípidos totales y perfil de ácidos grasos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento El hombre y su Ambiente. México. pp. 13-14.
- Jeffcoat, R., 1997. The physiological role and control of mammalian fatty acyl-coenzyme A desaturases. *Biochem. Soc. Trans.* 811-825.
- Malpica, A., Castro, T., Sandoval, H., Castro, J., De Lara, R. y Castro, G., 2004. Composición del contenido de ácidos grasos en tres poblaciones mexicanas de *Artemia franciscana* de aguas epicontinentales. *Rev. Biol. Trop.* 52(1): 297-300.
- Minnikin, E., Hutchinson, G., y Caldicott, B., 1980. Thin-Layer Chromatography of methanolysates of mycolic acid-containing bacteria. En: *Journal of Chromatography*. 188:221-223.
- Navarro, JC, Amat, F. y Sargent, S.F., 1993. The lipids of the cysts of freshwater and marine type *Artemia*. *Aquaculture* 109: 327-336.
- Robin, J. H., 1995. The importance of n-6 fatty acids in the culture of marine fish larvae. *ICES mar. Sci. Symp.*, 201: 106-111 pp.
- Stein, J. R., 1973. *Handbook of physiological methods. Culture methods and growth measurement.* Cambridge, University Press.
- Van Stappen, G., 1996. *Artemia*. Manual on the production and use of live food for aquaculture. P. Lavens and P. Soergeloos editors. FAO Fisheries technical paper : 79-264.
- Watanabe, T., Oowa, F., Kitajima, C. y Fujita, S., 1980. Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of w3 highly unsaturated fatty acids. En: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46: 35-41.