

EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE AGAR, ALGINATO Y CARRAGENANO EN LA ESTABILIDAD, DUREZA Y LAVADO DE NUTRIENTES EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA ABULÓN

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF AGAR, ALGINATE AND CARRAGEENAN ON THE STABILITY, TOUGHNESS AND NUTRIENT LEACHING IN ARTIFICIAL DIETS FOR ABALONE

Eduardo Durazo-Beltrán^{1*}

María Teresa Viana²

¹ Facultad de Ciencias Marinas

² Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Universidad Autónoma de Baja California

Apartado postal 453

Ensenada, C.P. 22800, Baja California, México

E-mail: edurazo@faro.ens.uabc.mx

Recibido en junio de 2000; aceptado en octubre de 2000

RESUMEN

Para evaluar el efecto de tres ficocoloides (agar, alginato y carragenano) sobre la calidad de alimentos balanceados para abulón en términos de estabilidad, lavado de nutrientes y dureza, se prepararon alimentos balanceados con cada uno de los enlazantes a diferentes concentraciones (0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% y 2.5%) y con dos fuentes diferentes de proteína: harina de pescado o ensilaje de vísceras de abulón. Los resultados muestran que tanto la estabilidad como la dureza se vieron influenciadas por el tipo de fuente proteica más que por el tipo y concentración del enlazante, ya que los alimentos balanceados con vísceras de abulón perdieron más del 20% de la materia seca, en comparación con los preparados con harina de pescado, que presentaron menos del 10%. Sin embargo, el lavado de nutrientes no se vio afectado por la concentración de los ficocoloides, resultado que coincide con lo reportado anteriormente de que la velocidad de lavado es independiente de la estabilidad. En general, cualquiera de los ficocoloides utilizados funcionó con buenas características a concentraciones bajas (0.5%); por esto, se concluye que los ficocoloides deben ser empleados en bajas concentraciones. Se recomienda poner atención al tipo de ingredientes utilizados, ya que éstos pueden tener una mayor influencia sobre la estabilidad y dureza que los mismos enlazantes.

Palabras clave: ficocoloides, enlazantes, alimento balanceado, abulón.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of different binders on the quality of artificial diets for abalone in terms of stability, nutrient leaching and toughness, three phycocolloids (agar, alginate and carrageenan) were

used at different concentrations (0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% and 2.5%), mixed with fish meal or abalone viscera silage as protein sources. Both stability and pellet toughness were influenced more by the protein source than by the type and concentration of the binder, as diets containing abalone viscera silage lost 20% dry matter, compared to the 10% lost in diets containing fish meal. However, nutrient leaching was not affected by the phycocolloid concentration. This result coincides with previous reports that leaching speed does not depend on stability. In general, all the binders used were effective at low concentrations (0.5%); therefore, the use of phycocolloids at low concentrations is recommended. Attention should also be given to the ingredients used, as these may have a greater influence on stability and toughness than the binders themselves.

Key words: phycocolloids, binders, artificial diets, abalone.

INTRODUCCIÓN

Al elaborar un alimento balanceado para un determinado organismo, se piensa por lo general en tres aspectos importantes: sus requerimientos nutricionales, ingredientes disponibles y costo de la ración. En la alimentación de organismos acuáticos, con frecuencia no se consideran los efectos que estos aspectos puedan presentar sobre las características físicas del alimento, como estabilidad y dureza. Un caso particular es el alimento balanceado para el abulón (*Haliotis* spp.), gasterópodo marino con hábitos lentos de alimentación, el cual ingiere el alimento raspando sobre superficies planas o rugosas.

De acuerdo con los hábitos alimenticios del abulón, el alimento balanceado generalmente se presenta en forma plana y con una densidad adecuada para promover su sedimentación. Sin embargo, no está establecido el tiempo que el alimento debe durar en el agua sin una considerable pérdida de materia seca. El acuacultor, por lo general, se inclina por un alimento que dure varios días, sin considerar la pérdida diferencial de nutrientes que pueda tener el alimento balanceado después de un cierto número de horas. Estudios previos han demostrado que los micronutrientes solubles son lavados del alimento a una velocidad distinta de la pérdida de materia seca (López y Viana, 1995). Por

INTRODUCTION

In the elaboration of an artificial diet for a particular organism, three main factors should be considered: the nutritional requirements of the species, the ingredients available and the cost. The effects of these factors on the physical characteristics of the food, such as stability and toughness, are often not considered in the feeding of aquatic organisms. One case in particular is the artificial diet for the abalone (*Haliotis* spp.), a marine gastropod with slow feeding habits, which ingests food by scraping it from flat and rough surfaces.

Based on the abalone's feeding habits, the artificial feed is generally flat-shaped and has a suitable density to promote sinking. However, the length of time the food can remain in the water without a considerable loss of dry matter has not yet been established. Abalone farmers generally prefer a feed that is stable for several days, without considering the differential loss of nutrients that the artificial diet may experience after several hours. Previous studies have shown that soluble micronutrients are washed out of the food at a different speed than the loss of dry matter (López and Viana, 1995). On the other hand, it is known that the toughness of the food and the ability of the radula to scrape it affects ingestion (Rivero and Viana, 1995; Chitramvong *et al.*, 1998).

otro lado, se sabe que la dureza del alimento y la capacidad de la rádula del abulón para rasparlo afecta la ingestión (Rivero y Viana, 1995; Chitramvong *et al.*, 1998).

Con el fin de conferir estabilidad a un alimento, generalmente se recurre a agentes enlazantes. En alimentos balanceados para acuacultura, los más comunes son el alginato, almidón, gelatina, gluten de trigo, carboximeticcelulosa y goma de algarroba (NRC, 1993; Avault, 1996), cuyos costos llegan a repercutir en el precio del alimento. En alimentos balanceados para abulón, el alginato de sodio, agar y almidón son los enlazantes que se reportan con mayor frecuencia (Uki *et al.*, 1985; Knauer *et al.*, 1993; Viana *et al.*, 1993; McShane *et al.*, 1994; López y Viana, 1995; Rivero y Viana, 1995; Monje y Viana, 1998); sin embargo, las diferentes compañías existentes que elaboran estos alimentos mantienen reservada o patentada la información referente a los agentes enlazantes que utilizan (Fleming *et al.*, 1996).

Como se mencionó con anterioridad, el uso de enlazantes influye en el costo del alimento. Por tanto, es importante el uso adecuado de los mismos y el buscar el nivel mínimo necesario para incluirlo en la formulación sin repercutir sobre el aporte nutricio del alimento. Por otro lado, se conoce que los ingredientes *per se* influyen directamente sobre las características de los enlazantes (Dominy y Lim, 1991). En alimentos balanceados para abulón una fuente proteica común es la harina de pescado (Fleming *et al.*, 1996). La sustitución parcial de ensilaje ácido de vísceras de abulón, como fuente proteica de bajo costo, ha mostrado resultados similares en crecimiento a los obtenidos con harina de pescado; sin embargo, la estabilidad de los alimentos disminuye de acuerdo con el incremento del ensilaje ácido, lo cual es un problema aún sin resolver (Viana *et al.*, 1996; Guzmán y Viana, 1998). La creciente demanda de alimentos dará lugar, sin duda, a la búsqueda de otros productos, que sustituyan de

Binder agents are generally used to improve food stability. In artificial diets for aquaculture, the most commonly used binders are alginate, starch, gelatin, wheat gluten, carboxymethylcellulose and carob gum (NRC, 1993; Avault, 1996); their prices may significantly affect the cost of the diet. The most frequently used binders in the artificial diets for abalone are sodium alginate, agar and starch (Uki *et al.*, 1985; Knauer *et al.*, 1993; Viana *et al.*, 1993; McShane *et al.*, 1994; López and Viana, 1995; Rivero and Viana, 1995; Monje and Viana, 1998). However, information about the binders used in industry is reserved or patented by the companies that produce these artificial diets (Fleming *et al.*, 1996).

As mentioned above, the use of binders influences the cost; therefore, it is important to use them properly and to search for the minimum level needed in the formula without affecting the nutritional supply. Moreover, it is known that the ingredients themselves have a direct influence on the characteristics of the binders (Dominy and Lim, 1991). In artificial diets for abalone, fish meal is a common protein source (Fleming *et al.*, 1996). The partial substitution of fish meal by acid abalone viscera silage, as a low-cost protein source, has provided similar results in organism growth. However, the stability of the food decreases as the acid silage content increases, a problem that has yet to be resolved (Viana *et al.*, 1996; Guzmán and Viana, 1998). The increasing demand for artificial diets will undoubtedly lead to the search for other products to partially or totally substitute fish meal, such as fish acid silage, and it is therefore important to know the effect of its use on the physical characteristics of the artificial diet.

This work aims to evaluate the effect of the concentration of three phycocolloid binders (alginate, agar and carrageenan) on the stability and toughness of nutrients in artificial diets for abalone, made with two different protein

manera parcial o total a la harina de pescado, como es el caso del ensilaje ácido de productos pesqueros y, por ende, resulta importante conocer las implicaciones de su uso sobre las características físicas del alimento balanceado.

Por lo anterior, el propósito del presente trabajo es el evaluar el efecto de la concentración de los ficocoloides enlazantes alginato, agar y carragenano en la estabilidad y dureza de nutrientes en alimentos balanceados para abulón, elaborados con dos diferentes fuentes de proteína: harina de pescado y ensilaje ácido de vísceras de abulón.

METODOLOGÍA

Se elaboraron dos grupos de alimentos balanceados variando el tipo de fuente proteica, uno con harina de pescado y el otro con ensilaje ácido de vísceras de abulón, de acuerdo con lo recomendado por Viana *et al.* (1993, 1996) (tablas 1, 2). Con cada grupo de alimento balanceado se usaron tres enlazantes: alginato de sodio, agar y kappa-carragenano grado alimenticio; se probaron a concentraciones de 0.0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% y 2.5%, para dar un total de 32 tratamientos. Como control se consideró a los tratamientos con nivel de 0.0% de ficocoloide. Los ingredientes se mezclaron inicialmente en forma manual. El almidón de maíz se gelatinizó por separado en agua a 75°C y se incorporó con el resto de los ingredientes, previo a la adición del ficocoloide correspondiente. Una vez hecha la mezcla, ésta se homogeneizó en una máquina formadora de pastas y se moldearon los alimentos balanceados a través de una boquilla con orificios de salida de 0.7 mm de apertura por 11 mm de ancho. Los alimentos en tiras se cortaron en porciones de 25–30 mm y se secaron durante 24 horas a 40°C en una estufa de convección. Las muestras secas se almacenaron en bolsas de polietileno a temperatura ambiente. Como alimentos de referencia, se usaron dos

sources: fish meal and acid silage of abalone viscera.

METHODOLOGY

Two groups of artificial diets were elaborated based on two different protein sources, one with fish meal and another with acid silage of abalone viscera, according to the recommendations of Viana *et al.* (1993, 1996) (tables 1, 2). Three binders were used for each group of the artificial diet: sodium alginate, agar and food-graded kappa-carrageenan; they were tested at concentrations of 0.0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% and 2.5%, for a total of 32 treatments, considering 0.0% phycocolloid level as control. The ingredients were first mixed manually. The corn starch was separately gelatinized in water at 75°C and then incorporated to the rest of the ingredients; the phycocolloid was then added. Once made, the mix was homogenized in a paste-forming machine and the pellets were molded using a nozzle with outlet openings of 0.7 mm by 11 mm wide. The strips of food were cut into portions of 25–30 mm and dried for 24 hours at 40°C in a convection stove. The dry samples were stored in polyethylene bags at room temperature. As reference food, two commercial artificial diets were used: Abfeed® from South Africa and Makara 1100® from New Zealand.

Stability

Stability was evaluated by recording the dry weight after three samples of each artificial diet were submerged in seawater for 24 hours at 17°C. The dry matter or total solids remaining in the samples were determined by gravimetry (percentage) after being dried at 100°C for 12 hours, using the following expression: % stability = (initial dry matter – final dry matter) * 100/initial dry matter.

Tabla 1. Composición de los alimentos balanceados experimentales para abulón con harina de pescado (HP) como fuente de proteína. Las cantidades se expresan en porcentaje del peso seco.

Table 1. Composition of the experimental artificial diets for abalone with fish meal (HP) as protein source. Quantities are expressed in percentage of dry weight.

Ingredientes	HP	HP* 0.5%	HP* 1%	HP* 1.5%	HP* 2%	HP* 2.5%
Harina de pescado	34.5	34.5	34.5	34.5	34.5	34.5
Harina de algas	10	10	10	10	10	10
Harina de soya	5	5	5	5	5	5
Almidón de maíz	24.35	23.85	23.35	22.85	22.35	21.85
Harina de maíz	8	8	8	8	8	8
Celulosa	12	12	12	12	12	12
Minerales	4	4	4	4	4	4
Vitaminas	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamina C	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Metionina	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Benzoato de sodio	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloruro de colina	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072
Butilhidroxitolueno	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036
Ficocoloide*	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5

* Tratamientos: agar (HPAG), carragenano (HPCA), alginato (HPAL).

alimentos balanceados comerciales: Abfeed® de Sudáfrica y Makara 1100® de Nueva Zelanda.

Estabilidad

La estabilidad fue evaluada a través del registro del peso seco remanente después de que los alimentos, por triplicado, fueron sumergidos en agua de mar a 17°C durante 24 horas. La materia seca o sólidos totales remanentes en las muestras se determinaron por gravimetría en forma porcentual, previo secado a 100°C durante 12 horas, mediante la siguiente expresión: % estabilidad = (materia seca inicial - materia seca final) * 100/ materia seca inicial.

Nutrient leaching

In order to determine nutrient leaching, the loss of soluble protein was measured after 24 hours immersion in seawater. Proteins were estimated as milligrams of soluble protein in seawater, where the artificial diets (both experimental and commercial) were subject to constant stirring. The modified Lowry method (Stevens, 1992) was used, recording the loss as milligrams of protein equivalent to bovine serum albumin lost in the water per gram of food. The analysis was done according to Viana *et al.* (1996), taking a 1-mL aliquot after incubation for 24 hours at 17°C with constant stirring.

Tabla 2. Composición de los alimentos balanceados experimentales para abulón con ensilaje de vísceras de abulón (EV) como fuente de proteína. Las cantidades se expresan en porcentaje del peso seco.

Table 2. Composition of the experimental artificial diets for abalone with abalone viscera silage (EV) as protein source. Quantities are expressed in percentage of dry weight.

Ingredientes	EV	EV* 0.5%	EV* 1%	EV* 1.5%	EV* 2%	EV* 2.5%
Ensilaje de abulón	22.5	22.5	22.5	22.5	22.5	22.5
Harina de pescado	12	12	12	12	12	12
Harina de algas	10	10	10	10	10	10
Harina de soya	5	5	5	5	5	5
Almidón de maíz	24.35	23.85	23.35	22.85	22.35	21.85
Harina de maíz	8	8	8	8	8	8
Celulosa	12	12	12	12	12	12
Minerales	4	4	4	4	4	4
Vitaminas	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamina C	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Metionina	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Benzoato de sodio	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Cloruro de colina	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072	0.072
Butilhidroxitolueno	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036	0.036
Ficocoloide*	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5

* Tratamientos: agar (EVAG), carragenano (EVCA), alginato (EVAL).

Lavado de nutrientes

Para medir el lavado de nutrientes se tomó en cuenta la pérdida de proteína soluble después de 24 horas de inmersión en agua. La proteína fue estimada como miligramos de proteína soluble en agua de mar, donde los alimentos balanceados (experimentales y comerciales) fueron sometidos a agitación constante. Se utilizó el método de Lowry modificado (Stevens, 1992), reportando la pérdida como miligramos de proteína equivalente a albúmina de suero de bovino perdida en el agua por gramo

Toughness

Toughness of the artificial feed was determined using a universal penetrometer, with a conic-point sliding rod, a total weight of 82.566 g and precision of 0.15 mm. Penetration in millimeters was evaluated in a 5-second period (deMan *et al.*, 1976) on food samples previously hydrated for 2 hours in seawater at 17°C. Toughness is reported as millimeters of penetration. The alga *Macrocystis pirifera* was used as reference parameter.

de alimento. El análisis se realizó de acuerdo con lo planteado por Viana *et al.* (1996), tomando una alícuota de 1 mL a las 24 horas de incubación a 17°C con agitación constante.

Dureza

La estimación de la dureza de los alimentos balanceados se determinó mediante un penetrómetro universal, provisto de una varilla de corrimiento con punta cónica y un peso total de 82.566 g, con una exactitud de 0.15 mm. La penetración en milímetros se evaluó en un tiempo de 5 segundos (deMan *et al.*, 1976) sobre muestras de alimento previamente hidratadas durante 2 horas en agua de mar a 17°C. La dureza se reporta como milímetros de penetración. Como parámetro de referencia se utilizó el alga *Macrocystis pyrifera*.

Análisis estadístico

Los datos de las pruebas de estabilidad y dureza de los alimentos balanceados con un mismo ficocoloide a distintas concentraciones fueron sometidos a las pruebas de análisis de regresión lineal y cuadrática. La significancia del ajuste de los datos a las regresiones se evaluó a través del análisis de residuos y análisis de varianza, de acuerdo con los criterios establecidos por Sokal y Rohlf (1981). Los datos de lavado de nutrientes se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía o la prueba de Kruskal-Wallis; posteriormente, entre los tratamientos se realizaron comparaciones múltiples mediante el método de Student-Newman-Keuls. Los datos se obtuvieron a partir de cuatro réplicas realizadas en cada alimento. Todas las inferencias estadísticas se basaron en un nivel de significancia de $P = 0.05$. Las pruebas se realizaron mediante los paquetes estadísticos Statistical Analysis System versión 6.03 y Sigma Stat versión 2.0 para Windows.

Statistical analysis

The stability and pellet toughness data obtained using the same phycocolloid at different concentrations were subjected to both linear and quadratic regressions. The significance of the fit of the data to the regressions was evaluated through the analysis of residuals and analysis of variance, according to the criteria established by Sokal and Rohlf (1981). The nutrient leaching data were analyzed by means of a one-way analysis of variance or the Kruskal-Wallis test; subsequently, multiple comparisons were developed among treatments with the Student-Newman-Keuls method. Data were obtained from four replicas made to each diet. All the statistical inferences were based on a significance level of $P = 0.05$. Tests were conducted with statistical software: Statistical Analysis System version 6.03 and Sigma Stat version 2.0 for Windows.

RESULTS

All the fish meal (HP) treatments presented stability values above 90%, even the control without phycocolloid (table 3). The carrageenan (HPCA) and alginate (HPAL) treatments showed significant quadratic regressions ($P < 0.05$) (table 4). Based on the tendency of the regressions, stability is greater with 0.5% of the phycocolloid than with the other experimental concentrations (fig. 1). In contrast, the values for the agar (HPAG) treatment did not fit the quadratic regression (table 4).

The penetration values for the HPAL and HPCA treatments (table 3) showed significant linear regressions ($P < 0.05$) (table 5), whereas in the HPAG treatment, penetration did not show significant dependence relative to the agar content (table 5). In the HPAL treatment, based on the regression slope (table 5), toughness tended to decrease as the alginate

Tabla 3. Valores de estabilidad y penetración (promedio \pm desviación estándar) en alimentos balanceados para abulón con harina de pescado a diferentes concentraciones de agar (HPAG), alginato (HPAL) y carragenano (HPCA).

Table 3. Stability and penetration values (average \pm standard deviation) in artificial diets for abalone with fish meal at different concentrations of agar (HPAG), alginate (HPAL) and carrageenan (HPCA).

Tratamientos con harina de pescado	Estabilidad (% sólidos totales)	Penetración (mm)
HPAG 0.5%	94.58 \pm 0.19	1.49 \pm 0.44
HPAG 1%	94.58 \pm 0.23	1.22 \pm 0.30
HPAG 1.5%	94.58 \pm 0.23	1.40 \pm 0.32
HPAG 2%	95.03 \pm 0.43	1.55 \pm 0.30
HPAG 2.5%	94.65 \pm 0.19	1.07 \pm 0.40
HPAL 0.5%	95.04 \pm 0.83	3.47 \pm 0.58
HPAL 1%	95.73 \pm 1.06	8.96 \pm 1.03
HPAL 1.5%	92.92 \pm 1.25	9.01 \pm 1.40
HPAL 2%	92.87 \pm 1.51	8.46 \pm 1.84
HPAL 2.5%	93.69 \pm 0.84	7.29 \pm 1.29
HPCA 0.5%	93.38 \pm 0.98	10.41 \pm 1.01
HPCA 1%	95.57 \pm 0.66	10.69 \pm 1.27
HPCA 1.5%	90.41 \pm 0.57	9.66 \pm 0.89
HPCA 2%	90.74 \pm 0.58	8.79 \pm 1.51
HPCA 2.5%	92.70 \pm 0.43	8.68 \pm 0.83
HP control	94.16 \pm 0.34	2.27 \pm 0.38

RESULTADOS

Todos los tratamientos con harina de pescado (HP) presentaron valores de estabilidad arriba de 90%, incluyendo el testigo sin ficocoloide (tabla 3). Los tratamientos con carragenano (HPCA) y alginato (HPAL) presentaron regresiones cuadráticas significativas ($P < 0.05$) (tabla 4). Con base en las tendencias de las regresiones, la estabilidad es mayor

concentration increased. In contrast, in the HPCA treatment, the regression slope (table 5) showed that toughness improves as the binder content increases.

Regarding the soluble protein leaching, significant differences ($P < 0.05$) among the binder concentrations were only recorded in the HPAG treatment, whereas in HPAL and HPCA, the binder concentrations did not influence the loss of soluble protein (table 6).

Tabla 4. Regresiones cuadráticas para los valores de estabilidad en alimentos balanceados para abulón con harina de pescado, en relación con la concentración de agar (HPAG), carragenano (HPCA) y alginato (HPAL); ns = no significativo.

Table 4. Quadratic regressions for stability values of artificial diets for abalone containing fish meal, in relation to the concentrations of agar (HPAG), carrageenan (HPCA) and alginate (HPAL); ns = not significant.

Tratamiento	Ecuación de la regresión	R^2	P	Punto de inflexión	
				x	y
HPAG	$y = 94.340 + 0.406 x - 0.095 x^2$	0.094	0.204	ns	ns
HPCA	$y = 96.930 - 5.550 x + 1.437 x^2$	0.288	0.004	1.931	91.570
HPAL	$y = 97.220 - 3.691 x + 0.86 x^2$	0.311	0.002	2.146	93.260

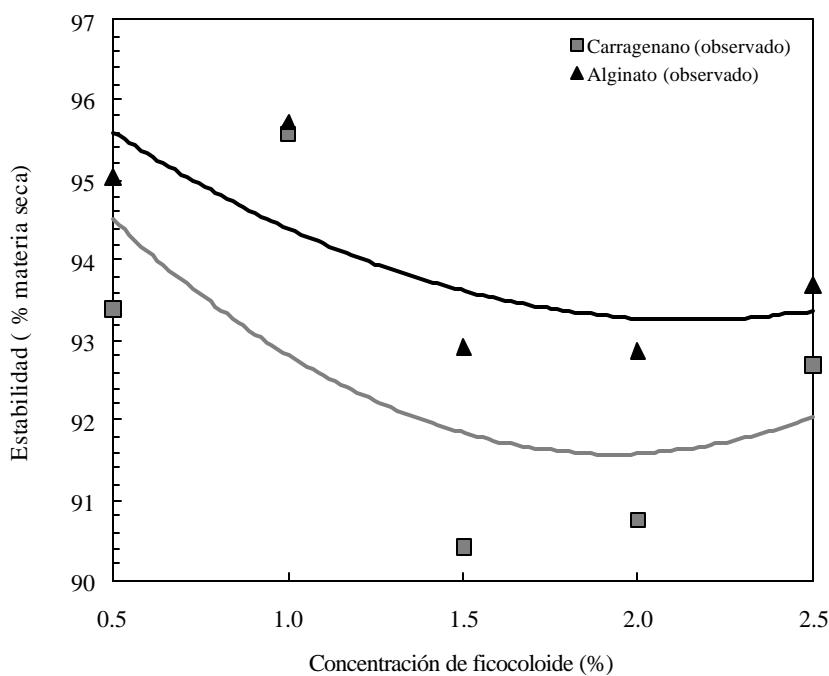


Figura 1. Distribución de los valores esperados (regresión) y observados de la estabilidad en alimentos balanceados para abulón, con harina de pescado como fuente de proteína, en relación con la concentración de ficocoloide.

Figure 1. Distribution of the expected (regression) and observed values of stability in artificial diets for abalone, with fish meal as protein source, in relation to the phycocolloid concentration.

Tabla 5. Regresiones lineales para los valores de penetración en alimentos balanceados para abulón con harina de pescado, en relación con la concentración de agar (HPAG), carragenano (HPCA) y alginato (HPAL).

Table 5. Linear regressions for penetration values in artificial diets for abalone containing fish meal, in relation to the concentrations of agar (HPAG), carrageenan (HPCA) and alginate (HPAL).

Tratamiento	Ecuación de la regresión	R ²	P
HPAG	y = 1.450 - 0.054 x	0.011	0.540
HPCA	y = 11.257 - 1.074 x	0.320	<0.001
HPAL	y = 5.298 + 1.428 x	0.177	0.012

con 0.5% del ficocoloide en relación con las otras concentraciones ensayadas (fig. 1). En contraste, los valores del tratamiento con agar (HPAG) no se ajustaron a la regresión cuadrática (tabla 4).

Los valores de penetración de los alimentos HPAL y HPCA (tabla 3) mostraron regresiones lineales significativas ($P < 0.05$) (tabla 5), mientras que en el tratamiento HPAG, la penetración no mostró una dependencia significativa con relación al contenido de agar (tabla 5). En el tratamiento HPAL, con base en la pendiente de la regresión (tabla 5), se observó una tendencia a disminuir la dureza con el incremento en la concentración del alginato. En contraste, en el tratamiento HPCA, la pendiente de la regresión (tabla 5) mostró que aumenta la dureza con el incremento del contenido de carragenano.

En el lavado de proteína soluble, sólo en HPAG se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las concentraciones de agar; en los tratamientos HPAL y HPCA, las concentraciones del alginato y carragenano no influyeron en la pérdida de proteína soluble (tabla 6).

Todos los alimentos balanceados con ensilaje de vísceras de abulón (EV) presentaron valores de estabilidad menores que 80% (tabla 7). Las estabilidades de los tratamientos con agar (EVAG), carragenano (EVCA) y alginato (EVAL) mostraron regresiones cuadráticas significativas ($P < 0.05$) (tabla 7). Las

All the artificial diets containing abalone viscera silage (EV) had stability values below 80% (table 7). The stability of the agar (EVAG), carrageenan (EVCA) and alginate (EVAL) treatments showed significant quadratic regressions ($P < 0.05$) (table 7). The regression trends found in the EVAG and EVCA treatments showed that, at lower binder concentrations, the food tends to be more stable (fig. 2). In the EVAL treatment, according to the type of regression found, maximum stability (75.20%) was observed at the inflection point (1.65% of alginate) of the regression curve (table 8).

The toughness values, expressed as penetration, in the EVAG and EVCA treatments showed significant linear regressions ($P < 0.05$). In EVAL, penetration did not show significant dependence relative to the binder content (table 9), whereas in EVAG, based on the slope of the linear regression (table 9), toughness increases with decreasing agar content. In contrast, in the EVCA treatment, the regression slope (table 9) showed that toughness increases as the carrageenan content increases.

The soluble protein leaching in the treatments with silage showed that the EVAG and EVAL diets experienced greater loss of soluble protein than the control, while in EVCA, no significant differences ($P < 0.05$) were recorded among the binder concentrations (table 10).

Tabla 6. Lavado de nutrientes, dado como miligramos de proteína soluble por gramo de alimento (promedio ± desviación estándar) liberado después de la permanencia en agua por 24 horas, de alimentos balanceados para abulón con harina de pescado. Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento.

Table 6. Nutrient leaching, reported as milligrams of soluble protein released per gram of food (average ± standard deviation) in artificial diets containing fish meal, after 24 hours of immersion in seawater. The different letters in the columns indicate significant differences ($P < 0.05$) among the treatment concentrations.

Concentración de ficocoloide	Tratamientos		
	HPAG	HPAL	HPCA
0.5%	26.63 ± 6.87a	16.14 ± 2.27a	13.21 ± 3.74a
1%	9.85 ± 3.03b	15.09 ± 5.19a	10.44 ± 2.29a
1.5%	18.20 ± 4.62c	12.79 ± 3.57a	14.05 ± 3.46a
2.0%	16.90 ± 1.21d	18.62 ± 2.00a	14.55 ± 2.12a
2.5%	17.99 ± 4.35d	17.82 ± 5.02a	17.15 ± 4.63a
Control (0%)	12.24 ± 5.12b,c,d	12.24 ± 5.12a	12.24 ± 5.12a

tendencias de las regresiones encontradas en los tratamientos EVAG y EVCA mostraron que a menor concentración de enlazante, la estabilidad fue mayor (fig. 2). En EVAL, a partir del tipo de regresión encontrada (fig. 2), se calculó que la estabilidad máxima (75.20%) se presentó en el punto de inflexión de la regresión (1.65% de alginato) (tabla 8).

Los valores de dureza, expresados como penetración, de los tratamientos EVAG y EVCA mostraron regresiones lineales significativas ($P < 0.05$). En EVAL, la penetración no mostró dependencia significativa con relación al contenido de alginato (tabla 9), mientras que en EVAG, con base en la pendiente de la regresión lineal (tabla 9), aumenta la dureza con la reducción del contenido de agar. En contraste, en EVCA la pendiente de la regresión (tabla 9) mostró que la dureza aumenta con el incremento del contenido de carragenano.

El lavado de proteína soluble en los tratamientos con ensilaje mostró que EVAG y EVAL presentaron pérdidas de proteína soluble mayores con relación al control, en tanto que

Differences were found in the quality parameters of the reference commercial diets. Abfeed® showed more stability than Makara 1100®. The penetration values indicated that Makara 1100® was tougher than Abfeed® (0.16 vs 1.19 mm, respectively), whereas *M. pyrifera* showed a penetration of 0.1 mm (table 11).

DISCUSSION

Even though there is no protocol that defines the physical characteristics which artificial diets for abalone should have, it is established, as in most artificial diets for aquatic organisms, that a stability of 90% during the time needed for consumption is adequate (Britz *et al.*, 1994). In the present study, this stability was obtained both in the commercial and experimental diets containing fish meal, after 24 hours of immersion in water (table 3). This stability was not observed in any of the treatments containing acid silage of abalone viscera, which lost more than 20% of the

Tabla 7. Valores de estabilidad y penetración (promedio ± desviación estándar) en alimentos balanceados para abulón con ensilaje de vísceras de abulón a diferentes concentraciones de agar (EVAG), alginato (EVAL) y carragenano (EVCA).

Table 7. Stability and penetration values (average ± standard deviation) in artificial diets for abalone containing abalone viscera silage at different concentrations of agar (EVAG), alginate (EVAL) and carrageenan (EVCA).

Tratamientos con ensilaje	Estabilidad (% sólidos totales)	Penetración (mm)
EVAG 0.5%	78.44 ± 1.26	11.42 ± 0.20
EVAG 1%	76.75 ± 0.66	10.99 ± 0.32
EVAG 1.5%	74.47 ± 1.41	11.51 ± 0.43
EVAG 2%	76.16 ± 0.60	11.81 ± 0.22
EVAG 2.5%	75.73 ± 0.75	12.01 ± 0.27
EVAL 0.5%	73.94 ± 0.68	11.27 ± 0.36
EVAL 1%	74.56 ± 0.35	11.73 ± 0.25
EVAL 1.5%	76.00 ± 0.61	11.31 ± 0.51
EVAL 2%	74.23 ± 0.48	12.04 ± 0.43
EVAL 2.5%	74.81 ± 0.54	11.16 ± 0.59
EVCA 0.5%	76.77 ± 0.94	12.11 ± 0.41
EVCA 1%	74.17 ± 0.78	11.60 ± 0.26
EVCA 1.5%	70.04 ± 1.55	11.55 ± 0.65
EVCA 2%	73.13 ± 1.04	11.20 ± 0.49
EVCA 2.5%	73.14 ± 0.89	10.76 ± 0.38
EV control	74.05 ± 0.67	11.71 ± 1.16

en EVCA no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las concentraciones del carragenano (tabla 10).

Los alimentos balanceados comerciales presentaron diferencias en sus parámetros de calidad, donde Abfeed® mostró una mayor estabilidad que Makara 1100®. Los valores de penetración indican que Makara 1100® presentó una mayor dureza con relación a Abfeed® (0.16 vs 1.19 mm, respectivamente), mientras

dry matter (table 7). The acid silage of marine products is characterized by its high proportion of hydrolyzed protein (Hardy *et al.*, 1983), which makes its bonding in food difficult. In contrast, in the elaboration of fish meal, hydrolysis or alteration of proteins are avoided (Ricque-Marie *et al.*, 1998).

With respect to the soluble nutrient leaching, the phycocolloids did not reduce protein leaching in any of the fish meal or abalone

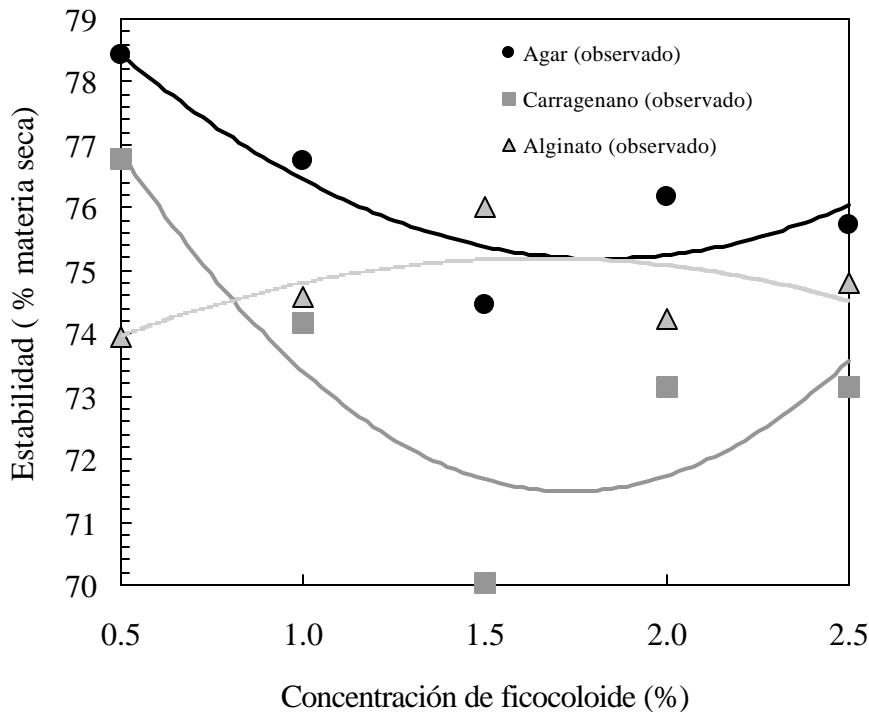


Figura 2. Distribución de los valores esperados (regresión) y observados de estabilidad en alimentos balanceados para abulón, con ensilaje de vísceras de abulón como fuente de proteína, en relación con la concentración de ficocoloide.

Figure 2. Distribution of the expected (regression) and observed values of stability in artificial diets for abalone, with abalone viscera silage as protein source, in relation to the phycocolloid concentration.

Tabla 8. Regresiones cuadráticas para los valores de estabilidad en alimentos balanceados para abulón con ensilaje ácido de vísceras de abulón, en relación con la concentración de agar (EVAG), carragenano (EVCA) y alginato (EVAL).

Table 8. Quadratic regressions for stability values of artificial diets for abalone containing abalone viscera silage, in relation to the concentrations of agar (EVAG), carrageenan (EVCA) and alginate (EVAL).

Tratamientos	Ecuación de la regresión	R^2	P	Punto de inflexión	
				x	y
EVAG	$y = 81.318 - 6.785 x + 1.861 x^2$	0.547	<0.001	1.820	75.133
EVCA	$y = 82.154 - 12.31 x + 3.551 x^2$	0.633	<0.001	1.733	71.502
EVAL	$y = 72.641 + 3.102 x - 0.94 x^2$	0.255	0.009	1.650	75.200

Tabla 9. Regresiones lineales para los valores de penetración en alimentos balanceados para abulón con ensilaje de vísceras de abulón, en relación con la concentración de agar (EVAG), carragenano (EVCA) y alginato (EVAL).

Table 9. Linear regressions for penetration values of artificial diets for abalone containing abalone viscera silage, relative to the concentrations of agar (EVAG), carregeenan (EVCA) and alginate (EVAL).

Tratamientos	Ecuación de la regresión	R ²	P
EVAG	$y = 10.952 + 0.398 x$	0.401	<0.001
EVCA	$y = 12.373 - 0.620 x$	0.506	<0.001
EVAL	$y = 11.478 + 0.016 x$	4×10^{-4}	0.904

Tabla 10. Lavado de nutrientes, dado como miligramos de proteína soluble por gramo de alimento (promedio ± desviación estándar, mediana) liberados después de la permanencia en agua por 24 horas, de alimentos balanceados para abulón con ensilaje ácido de vísceras de abulón. Las diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento.

Table 10. Nutrient leaching, reported as milligrams of soluble protein released per gram of food (average ± standard deviation, mean) in artificial diets containing acid silage of abalone viscera, after 24 hours of immersion in seawater. Different letters in the columns indicate significant differences ($P < 0.05$) among the treatment concentrations.

Concentración de ficocoloide	Tratamientos						
	EVAG	EVAL*			EVCA*		
		Mediana	25%	75%	Mediana	25%	75%
0.5%	53.67 ± 10.20a	26.08a	22.68	28.47	32.75a	28.97	42.81
1%	49.90 ± 12.76a	37.90b	27.21	39.54	27.12a	20.93	29.98
1.5%	45.79 ± 12.86a	46.84c	42.01	48.35	28.22a	19.92	37.28
2.0%	48.26 ± 4.64a	53.88c	45.83	55.89	26.71a	25.96	27.46
2.5%	46.50 ± 5.80a	32.87b	24.45	37.02	23.19a	19.92	21.72
Control (0%)	22.77 ± 9.35b	19.16d	17.65	21.68	19.16a	17.65	21.68

* Prueba de Kruskal-Wallis; diferencias entre grupos por el método de Student-Newman-Keuls.

que *M. pyrifera* presentó una penetración de 0.1mm (tabla 11).

DISCUSIÓN

Aun cuando no existe un protocolo que defina las características físicas que debe tener el alimento balanceado para abulón, se establece, como en la mayoría de los casos de

viscera silage treatments in relation to the control treatment (tables 6, 10). This result coincides with previous reports that the speed and amount of soluble matter is not related to stability (López and Viana, 1995). Thus, it is necessary to consider that, even though an artificial diet presents a suitable stability, important micronutrients may be lost without directly affecting the dry matter.

Tabla 11. Valores de estabilidad y penetración (promedio \pm desviación estándar) en alimentos balanceados comerciales, y de penetración en alimento natural (láminas de *Macrocystis pyrifera*); nd = no determinado.

Table 11. Values of stability and penetration (average \pm standard deviation) in commercial artificial diets, and of penetration in natural food (*Macrocystis pyrifera* laminae); nd = not determined.

Alimentos comerciales	Estabilidad (% sólidos totales)	Penetración (mm)
Abfeed®	95.12 \pm 0.76	1.19 \pm 0.59
Makara 1100®	91.17 \pm 0.25	0.16 \pm 0.08
<i>M. pyrifera</i>	nd	0.10 \pm 0.03

alimentos balanceados para organismos acuáticos, que una estabilidad de 90% durante el tiempo necesario que asegure su consumo sea la adecuada (Britz *et al.*, 1994). En el presente trabajo se obtuvo dicha estabilidad en los alimentos balanceados comerciales y en los elaborados con harina de pescado después de 24 horas de permanencia en el agua (tabla 3), caso que no se observó en ninguno de los tratamientos que contenían ensilaje ácido de vísceras de abulón, los cuales perdieron más del 20% de la materia seca (tabla 7). El ensilaje ácido de productos marinos se caracteriza por contener una elevada proporción de proteína hidrolizada (Hardy *et al.*, 1983), lo cual torna difícil su enlazado en los alimentos. En contraste, en la harina de pescado se evita que ocurra hidrólisis o alteración de proteínas en su elaboración (Ricque-Marie *et al.*, 1998).

En el lavado de nutrientes solubles se determinó que los ficocoloides en ninguno de los tratamientos con harina de pescado o ensilaje de vísceras de abulón redujeron el lavado de proteína con relación al control (tablas 6, 10). Esto viene a corroborar lo mencionado con anterioridad, que la velocidad y cantidad de materia soluble no está en relación a las propiedades de estabilidad (López y Viana, 1995). Por esto, es necesario que se considere que aunque un alimento balanceado presente una estabilidad adecuada, se contemplé la

In general, the phycocolloid concentration influenced both the stability and toughness of the artificial diet. The phycocolloid concentrations used in this study (0.5–2.5%) cover the range in which gels can be obtained for use in food (McHugh, 1987). The binding ability of the gel-phase phycocolloids is associated with the meshes or aggregates they generate (Heyraud *et al.*, 1990), which help in food cohesion. Though the influence of the concentration of each phycocolloid is observed in the treatments containing acid silage of abalone viscera, a stability equal or better than 90% was not attained in any treatment. This shows the difficulty of bonding the constituents of fish silage, probably because of the high content of hydrolyzed protein. It also indicates the importance of testing the inclusion of silage at lower concentrations, in order to continue lowering the cost of the formula while taking advantage of its properties (Rivero and Viana, 1995).

Based on the stability regressions of the artificial diets, it can be concluded that the phycocolloids had a certain influence in most cases. For instance, carrageenan had the same effect on stability with both protein sources, as stability increased as the carrageenan concentrations decreased (figs. 1, 2). On the other hand, for both protein sources, pellet toughness increased as the carrageenan concentrations

posibilidad de que importantes micronutrientes se pierdan sin influir directamente en la materia seca.

En general, puede decirse que la concentración de los ficocoloides influyó en las características de estabilidad y dureza del alimento balanceado. Las concentraciones de ficocoloides utilizadas en el estudio (de 0.5% a 2.5%) comprendieron el intervalo en el cual es posible obtener geles para usos en alimentos (McHugh, 1987). La capacidad enlazante de los ficocoloides en la fase gel se asocia con las mallas o agregados que generan (Heyraud *et al.* 1990), lo cual favorece la cohesión de los ingredientes del alimento. Si bien se observa la influencia de la concentración de cada ficocoloide sobre los tratamientos que contenían ensilaje ácido de vísceras de abulón, en ningún caso se logró obtener una estabilidad igual o mejor que 90%. Lo anterior muestra la dificultad de enlazar los constituyentes del ensilaje de productos marinos, probablemente por la alta cantidad de proteína hidrolizada; así mismo, se marca la importancia de probar la incorporación del ensilaje en menor concentración, de tal manera que siga abaratando el costo de la formulación y que actúen sus propiedades como atrayente (Rivero y Viana, 1995).

Con base en las regresiones de estabilidad de los alimentos balanceados, puede decirse que los ficocoloides tuvieron cierta influencia en la mayoría de los casos. Por ejemplo, el carragenano presentó el mismo efecto en la estabilidad con ambas fuentes proteicas, observándose un aumento de ésta al disminuir la concentración del carragenano (figs. 1, 2). Sin embargo, de manera contraria, para ambas fuentes proteicas el alimento mostró mayor dureza al incrementar el carragenano (tablas 5, 9). Este hecho es difícil de explicar, pues si se debiera a la facilidad que presenta este ficocoloide a solubilizarse a bajas concentraciones, no se debería presentar el efecto inverso entre estabilidad y dureza. Lo que sí

increased (tables 5, 9). This behavior is difficult to explain, because if it is due to the easy solubility of this phycocolloid at low concentrations then the inverse effect of stability and toughness should not occur. However, when the food became tougher as the concentration increased, it was not able to retain the dry matter. Perhaps the conformation of carrageenan gel meshes influenced toughness, forming rigid pores that allowed the loss of dry matter.

Sodium alginate had a different behavior with both protein sources: stability increased as the concentration decreased in the fish meal diet (fig. 1), whereas in the treatments with abalone viscera, stability increased at higher concentrations, showing an inflection point (1.65%) towards the middle of the range evaluated (fig. 2). With respect to toughness, a higher concentration of alginate favored its increase in the fish meal treatments (table 5), whereas with silage, there was no effect (table 9). This means that sodium alginate is not an appropriate phycocolloid when using fish silage as protein source, since there are a lot of free ions that may interfere in the process of chain interlacing (Skjåk-Braek and Martisen, 1991). However, with fish meal, it behaves in a similar manner to that shown with carrageenan.

The presence of agar in the fish meal treatments showed that the concentration did not influence stability and toughness (fig. 1, table 5), whereas in the silage treatments, stability and toughness decreased as the binder concentration increased (fig. 2, table 9). Agar is a binder agent that features strong gel formation at concentrations lower than 0.5% (Skjåk-Braek and Martisen, 1991), so it is possible that above this value, stability is not affected by the concentration in the case of fish meal. On the other hand, as observed with the other phycocolloids, the use of agar does not favor cohesion of the ingredients of the acid

puede decirse es que aun cuando el alimento se hizo más duro al aumentar su concentración, no fue capaz de retener la materia seca. Quizás la conformación de las mallas de gel del carragenano influyó en la dureza, formando poros rígidos que permitieron la salida de la materia seca.

El alginato de sodio presentó un comportamiento contrario entre ambas fuentes proteicas; la estabilidad aumentó al disminuirse la concentración en el caso de harina de pescado (fig.1), mientras que para los tratamientos con vísceras de abulón, aumentó al incrementar la concentración, observándose el punto de inflexión (1.65%) hacia la mitad del intervalo evaluado (fig. 2). En relación con la dureza, el aumento en la concentración de alginato favoreció su incremento en los tratamientos con harina de pescado (tabla 5), mientras que para los de ensilaje, no hubo efecto alguno (tabla 9). Esto implica que el alginato de sodio no es un ficocoloide adecuado cuando se utiliza ensilaje de productos marinos, ya que hay una gran cantidad de iones libres, los cuales pueden interferir en el proceso de entrecruzamiento de cadenas (Skjåk-Braek y Martisen, 1991). Sin embargo, para el caso de la harina de pescado, se comporta de manera similar a lo observado con el carragenano.

La presencia de agar en los tratamientos con harina de pescado mostró que no hubo influencia de la concentración sobre la estabilidad y la dureza (fig. 1, tabla 5), mientras que para los tratamientos con ensilaje se observó que al aumentar la concentración, disminuyó la estabilidad y dureza (fig. 2, tabla 9). El agar es un enlazante que tiene la característica de formar geles fuertes a concentraciones menores de 0.5% (Skjåk-Braek y Martisen, 1991), por lo que es posible que arriba de este valor la estabilidad no fuera afectada por la concentración en el caso de la harina de pescado. Por otro lado, al igual que lo que se observó con los otros ficocoloides, el uso del agar no favorece la

fish silage. It is known that salts or anions, such as amines or chlorides, present in the silage interfere with the formation of hydrogen bonds between agar and water (Piculell and Nilsson, 1989), which could have prevented the formation of the gel aggregates.

Another ingredient supplied in a reasonable amount (21–24%) was starch, which also has a gelling ability and could have concealed, in some way, the effect of the phycocolloids.

The food's toughness is considered an important property because when certain limits of toughness and softness are exceeded the ingestion rate is affected (McShane *et al.*, 1994; Rivero and Viana, 1995). In this work, two commercial artificial diets and *M. pyrifera*, the abalone's natural food in the Baja California region, were used as reference and the toughness values obtained for the experimental treatments were below their values (tables 3, 7). Nevertheless, even though an effect of phycocolloid concentration on toughness was observed, all the values obtained herein were lower than that of *M. pyrifera* (table 11). It is known that the scraping ability depends on the structure of the radula, which, in turn, is determined by the species and age of the organism (Chitramvong *et al.*, 1998). Therefore, it would be rather ambiguous to give specific values for the genus *Haliotis*. However, attention should be given to this aspect as it is recommendable that this characteristic be considered in the elaboration of artificial diets for abalone.

In conclusion, the quality and type of raw material strongly influence the physical characteristics of stability and toughness. Also, nutrient leaching does not depend, in any case, on the phycocolloid concentration. In the case of the artificial diets containing fish meal, a phycocolloid concentration of 0.5% is enough. Regarding the artificial diets containing abalone viscera silage, tests will be necessary in order to include it in proportions lower than

cohesión de los ingredientes del ensilaje ácido de productos marinos. Se conoce que sales o aniones como aminas o cloruros presentes en el ensilaje interfieren en la formación de puentes de hidrógeno entre el agar y el agua (Piculell y Nilsson, 1989), lo cual pudo impedir la formación de los agregados de gel.

Por otro lado, uno de los ingredientes proporcionados en una cantidad razonable (21–24%) fue el almidón, ingrediente que presenta capacidad gelificante y que pudo, de cierta manera, haber enmascarado el efecto de los ficocoloides.

La dureza del alimento es una propiedad a la que se le ha dado importancia, ya que se sabe que cuando se rebasan ciertos límites de dureza y suavidad la tasa de ingestión se ve afectada (McShane *et al.*, 1994; Rivero y Viana, 1995). En el presente trabajo, como referencia se utilizaron dos alimentos balanceados comerciales y *M. pyrifera*, el alimento natural del abulón en la región de Baja California, y se observó que los tratamientos experimentales presentaron valores de dureza por debajo de éstos (tablas 3, 7). No obstante, aunque se observó un efecto de la concentración del ficocoloide sobre la dureza, todos los valores aquí obtenidos fueron menores que el de *M. pyrifera* (tabla 11). Se sabe que la capacidad de raspado depende de la estructura de la rádula, misma que está determinada tanto por el tipo de especie como por la edad de los organismos (Chitramvong *et al.*, 1998). Por tanto, resultaría un tanto ambiguo dar valores específicos para el género *Haliotis*. Sin embargo, se recomienda poner atención a este aspecto para que esta característica sea tomada en cuenta al elaborar alimentos balanceados para abulón.

En resumen, puede concluirse que para efecto de la estabilidad y dureza del alimento balanceado, la calidad y tipo de materia prima tienen una gran influencia sobre sus características físicas. Así mismo, el lavado de nutrientes no depende en ningún caso de la concentración

22% and thus find the way to improve the stability and toughness characteristics.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was financed by UABC and by CONACYT (project 1925PB). The authors thank Armando Shimada and Ofelia Mora for their help in the statistical analysis and their comments to the work.

English translation by Manuel Gardea.

del ficocoloide. En el caso de los alimentos balanceados con harina de pescado, resulta suficiente utilizar ficocoloides a una concentración de 0.5%. En cuanto a los alimentos balanceados que contienen ensilaje de vísceras de abulón, será necesario hacer pruebas para incluirlo en proporciones menores del 22% y así encontrar la manera de mejorar las características de estabilidad y dureza.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Sistema de Investigación de la UABC y por el CONACYT (proyecto 1925PB). Los autores agradecen a Armando Shimada y Ofelia Mora la ayuda en el análisis estadístico de los resultados y los comentarios sobre el trabajo de investigación.

REFERENCIAS

- Avault, J.W. (1996). Fundamentals of Aquaculture: A Step-by-step Guide to Commercial Aquaculture. AVA Publ. Co., Baton Rouge, 889 pp.
Britz, P.J., Hecht, T., Knauer, J. and Dixon, M.G. (1994). The development of an artificial feed for abalone farming. S. Afr. J. Sci., 90: 7–8.
Chitramvong, Y.P., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Sobhon, P. and Limthong, V. (1998). Scanning

- electron microscope study of radulae in *Haliotis asinina* Linnaeus, 1758 and *Haliotis ovina* Gmelin, 1791 (Gastropoda: Haliotidae). J. Shellfish Res., 17(3): 755–759.
- deMan, J.M., Voisey, P.W., Casper, V.F. and Stanley, D.W. (1976). Rheology and Texture in Food Quality. AVI Publ. Co., Westport, Connecticut, pp. 469–471.
- Dominy, W.G. and Lim, C. (1991). Performance of binders in pelleted shrimp diets. In: Proc. Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. American Soybean Association, Singapore, pp. 149–157.
- Fleming, A.E., van Barneveld, R.J., Hone, W.O. (1996). The development of artificial diets for abalone: A review and future directions. Aquaculture, 140: 5–53.
- Guzmán, J.M. and Viana, M.T. (1998). Growth of *Haliotis fulgens* fed diets with and without fish meal compared to a commercial diet. Aquaculture, 165: 321–331.
- Hardy, R.W., Shearer, K.D., Stone, F.E. and Wieg, D.H. (1983). Fish silage in aquaculture diets. J. World Maricul. Soc., 14: 695–703.
- Heyraud, A., Rinaudo, M. and Rochas, C. (1990). Physical and chemical properties of phycocolloids. In: I. Akatuka (ed.), Introduction to Applied Phycology. SPB Academic Publ., The Hague, pp. 151–176.
- Knauer, J., Britz, P.T. and Hecht, T. (1993). The effect of seven binding agents on 24 hour stability of an artificial weaning diet for the South African abalone, *Haliotis midae* (Haliotidae, Gastropoda). Aquaculture, 115: 327–334.
- López, L.M. y Viana, M.T. (1995). Determinación de la calidad del alimento elaborado con ensilajes de pescado crudo y cocido para abulones juveniles de *Haliotis fulgens*. Ciencias Marinas, 21(3): 331–342.
- McHugh, D.J. (1987). Production and utilization of products from commercial seaweeds. FAO Fish. Tech. Paper 288: 189 pp.
- McShane, P.E., Gorfine, H.K. and Knuckey, I.A. (1994). Factors influencing food selection in the abalone *Haliotis rubra* (Mollusca: Gastropoda). J. Exp. Biol. Ecol., 176: 27–37.
- Monje, H. and Viana, M.T. (1998). The effect of cellulose on the growth and cellulolytic activity of abalone *Haliotis fulgens* when used as an ingredient in formulated artificial diets. J. Shellfish Res., 17(3): 667–671.
- NRC (National Research Council) (1993). Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, D.C., 114 pp.
- Piculell, L. and Nilsson, S., 1989. Anion-specific salt effects in aqueous agarose systems. 1. Effects on the coil-helix transition and gelation of agarose. J. Phys. Chem., 93: 5596–5601.
- Ricque-Marie, D., Abdo-de la Parra, M.A., Cruz-Suarez, L.E., Cuzon, G., Cousin, M. and Pike, I.A. (1998). Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. Aquaculture, 165: 95–109.
- Rivero, L.E. and Viana, M.T. (1995). Effect of pH, water stability and toughness of artificial diets on the palatability for juvenile abalone *Haliotis fulgens*. Aquaculture, 144: 353–362.
- Skjåk-Bræk, G. and Martisen, A. (1991). Applications of some algal polysaccharides in biotechnology. In: M.D. Guiry and G. Bluden (eds.), Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential. John Wiley, Chichester, pp. 219–257.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. (1981). Biometry. 2nd ed. W.H. Freeman, New York, 859 pp.
- Stevens, L. (1992). Buffers and the determination of protein concentration. In: R. Eisenthal and M.J. Danson (eds.), Enzyme Assays: A Practical Approach. Oxford Univ. Press, New York, pp. 330–332.
- Uki, N., Kemuyama, A. and Watanabe, T. (1985). Development of semipurified test diets for abalone. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 51(11): 1825–1833.
- Viana, M.T., López, L.M. and Salas, A. (1993). Diet development for juvenile abalone, *Haliotis fulgens*, evaluation of two artificial diets and macroalgae. Aquaculture, 117: 149–156.
- Viana, M.T., López, L.M., García-Esquível, Z. and Méndez, E. (1996). The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. Aquaculture, 140: 87–98.