

FIBRA CRUDA Y QUITINA EN EL CRUSTÁCEO LANGOSTILLA (*Pleuroncodes planipes*, STIMPSON): SIMILITUDES Y DIFERENCIAS

CRUDE FIBER AND CHITIN IN THE RED CRAB (*Pleuroncodes planipes*, STIMPSON): SIMILARITIES AND DIFFERENCES

Ma. de la Concepción Calvo-Carrillo

Ma. Isabel Castro-González

Rocío Sánchezarmas-Luna

Fernando Pérez-Gil-Romo

Departamento de Nutrición Animal

Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán

Vasco de Quiroga 15, Tlalpan, 14000

México, DF

México

Recibido en junio de 1994; aceptado en marzo de 1995

RESUMEN

Uno de los recursos marinos de importancia potencial para México es el crustáceo conocido como langostilla, *Pleuroncodes planipes*, Stimpson. Al realizar la revisión bibliográfica sobre composición química de crustáceos, se encontró que algunos autores reportan como equivalente del contenido de quitina a la fibra cruda, componente estructural de las plantas formado principalmente de celulosa, a diferencia de la quitina que es un homopolisacárido y el principal componente del exoesqueleto de los crustáceos. El objetivo de este trabajo fue determinar las similitudes y diferencias entre la técnica oficial para estimar fibra cruda y una técnica seleccionada para determinar quitina en harina de langostilla. Las técnicas de análisis fueron: la descrita por la *Association of Official Analytical Chemist*, para fibra cruda, y la de Black y Schwartz, para quitina. Se realizaron 12 determinaciones de fibra cruda y quitina de cinco lotes de langostilla bentónica. Los resultados indicaron diferencia significativa entre las determinaciones de fibra cruda y quitina efectuadas en muestras de langostilla. Se concluye que, a pesar de que los métodos y las estructuras químicas de la fibra cruda y quitina sean similares, de que formen parte estructural de los organismos y de que ambas se consideren como la porción indigerible, para cuantificarlas se deben usar técnicas específicas. Al emplear la técnica de fibra cruda en lugar de la de quitina se sobrevalora esta última. Puesto que no existe una técnica oficial para la determinación de quitina, se recomienda adaptar la técnica de Black y Schwartz en un laboratorio convencional de análisis de alimentos.

Palabras clave: langostilla, *Pleuroncodes planipes*, quitina, fibra cruda, crustáceos, técnicas de análisis.

ABSTRACT

One of the potentially important marine resources in Mexico is the crustacean known as the red crab, *Pleuroncodes planipes*, Stimpson. During a bibliographic review of the chemical composition of crustaceans, it was found that some authors report chitin as crude fiber, a structural component of plants formed principally by cellulose. It differs from chitin in that it is a homopolysaccharide and the main component of the exoskeleton of crustaceans. The objective of this work was to determine similarities and differences between the official method of estimating crude fiber and the method selected here for analyzing chitin in red crab meal. The analytical methods were: that described by the

Association of Official Analytical Chemists for crude fiber, and that of Black and Schwartz for chitin. Twelve repetitions in five lots of red crab meal were conducted to determine crude fiber and chitin. The results show statistical differences between chitin and crude fiber. The conclusions indicate that despite similarities in the analytical methods and the chemical structures of crude fiber and chitin, and that they both form the structural part of the organisms and are considered as the indigestible portion, specific techniques should be used to quantify them. Using the crude fiber method instead of the chitin method overestimates the chitin. Since no official technique exists for determining chitin, it is recommended to use Black and Schwartz' method since it can be adapted in a conventional food analysis laboratory.

Key words: red crab, *Pleuroncodes planipes*, chitin, crude fiber, crustaceans, analytical methods.

INTRODUCCIÓN

Dentro de las crisis económica y de producción pecuaria actuales, los recursos potenciales representan una alternativa para solventar, aunque sea parcialmente, la problemática de la alimentación. El crustáceo langostilla es fauna de acompañamiento en el golfo de California, mientras que en la costa occidental de Baja California abunda y está ampliamente distribuido, por lo que es viable su explotación, con el fin de aprovechar su contenido proteico, ácidos grasos, pigmentos y quitina, en diversas industrias (alimenticia, farmacéutica, de cosméticos, plástica). En la actualidad, se está estudiando ampliamente para determinar su aprovechamiento integral (Carrillo *et al.*, 1994; Castillo, 1991; Castro *et al.*, 1994; Gallardo, 1975; García, 1992; Jiménez, 1978; Karnicki, 1981; Rocha *et al.*, 1988; Spinelli *et al.*, 1974). Al realizar la revisión bibliográfica sobre la composición química de crustáceos, se detectó que algunos autores (Bod'a, 1990; Kato, 1974; López *et al.*, 1982) han reportado el valor de fibra cruda como sinónimo de quitina.

La fibra cruda es una mezcla heterogénea de hidratos de carbono (celulosa, hemicelulosa) y otros materiales como lignina, que se encuentran formando parte de las paredes celulares, estructura exclusiva de plantas y algunas bacterias (Van Soest, 1977). La celulosa consiste en largas cadenas paralelas de glucosa, ligadas por enlaces β -(1→4), que forman microfibrillas (Braverman, 1980).

La quitina es un hidrato de carbono complejo, que forma parte estructural del exoesqueleto de los crustáceos y constituye del 15 al 30% de su peso total (Garzón *et al.*, 1993). Es un

INTRODUCTION

Within the present economic and livestock production crises, potential resources represent an alternative for solving, although partially, nutritional problems. The red crab crustacean is supplemental fauna in the Gulf of California, while in the west coast of Baja California, it is abundant and widely distributed. This makes its exploitation viable since its protein content, fatty acids, pigments and chitin can be useful for various industries (food, pharmaceutical, cosmetic, plastic). It is currently being widely studied to determine its integral exploitation (Carrillo *et al.*, 1994; Castillo, 1991; Castro *et al.*, 1994; Gallardo, 1975; García, 1992; Jiménez, 1978; Karnicki, 1981; Rocha *et al.*, 1988; Spinelli *et al.*, 1974). Upon researching bibliographies on the chemical composition of crustaceans, it was detected that some authors (Bod'a, 1990; Kato, 1974; López *et al.*, 1982) have reported the value of crude fiber as a synonym of chitin.

Crude fiber is a heterogeneous mixture of carbohydrates (cellulose, hemicellulose) and other materials such as lignin that form part of the cellular walls, structures exclusive to plants and some bacteria (Van Soest, 1977). Cellulose consists of long parallel chains of glucose, bonded by β -(1→4) links that form microfibrils (Braverman, 1980).

Chitin is a complex carbohydrate that forms the structural part of the exoskeleton of the crustaceans and constitutes 15-30% of their total weight (Garzón *et al.*, 1993). It is a polymer with 80-90% n-acetylglucosamine and 10-20% glucosamine, joined by β -(1→4) type glucosidic linkages (Dall and Moriarty, 1983; Akhtar

polímero con 80 a 90% de n-acetilglucosamina y 10 a 20% de glucosamina, unidos por enlaces glucosídicos del tipo β -(1→4) (Dall y Moriarty, 1983; Akhtar y Haleem, 1990). La quitina en los crustáceos se ha encontrado en la forma alfa con cadenas en direcciones alternas, que es la forma más estable debido a los enlaces de hidrógeno entre ellas. La rigidez del exoesqueleto de los crustáceos se debe a la inclusión de sales de calcio en los espacios existentes entre las fibras de quitina, a las que en ocasiones se adhieren algunas proteínas (Stevenson, 1985; Roer y Dillaman, 1984; Goffinet y Compere, 1986). Se ha reportado que la quitina puede estar asociada a pigmentos del tipo ceto-carotenoides (cantaxantina, astaxantina) (Ghidalia, 1985). La importancia de los métodos de análisis nutricionales en cualquier alimento depende de su selección, estandarización y validación, de manera que los resultados que se obtengan sean representativos de la fracción de interés. La técnica oficial para determinar fibra cruda se encuentra en los métodos publicados por la *Asociation of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1992); sin embargo, para la determinación de quitina no se cuenta con una técnica oficial, aunque existen técnicas de análisis de diferente tipo: enzimática, y por digestión básica y ácida; esta última puede ser mediante calcinación del residuo o determinando el nitrógeno del residuo (quitina) (Black y Schwartz, 1950; Castillo, 1991; Voss-Foucart *et al.*, 1978; Garzón, 1993; López *et al.*, 1982; Pierce *et al.*, 1969; Spinelli *et al.*, 1974; Voss-Foucart y Jeuniaux, 1978). Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar las similitudes y diferencias entre la técnica oficial para determinar fibra cruda y una técnica de fácil adaptación, estandarización y manejo (Black y Schwartz, 1950) similar a la existente para determinar fibra cruda (AOAC, 1992), en diferentes muestras de harina de langostilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de la muestra

La muestra se recolectó a bordo del *B/O El Puma*, en la costa occidental de Baja California

and Haleem, 1990). Crustacean chitin has been found in the alpha form with chains in alternating directions, which is the most stable form due to the hydrogen links between them. The rigidness of the crustaceans' exoskeleton is due to the inclusion of calcium salts in the existing spaces between the chitin fibers, to which, on occasion, some proteins adhere to (Stevenson 1985; Roer and Dillaman, 1984; Goffinet and Compere, 1986). It has been reported that chitin can be associated with ketocarotenoid type pigments (cantaxantine and astaxantine) (Ghidalia, 1985). The importance of nutritional analytical methods of any food depends on their selection, standardization and validation in such a manner that the results obtained will be representative of the area of interest. The official technique for determining crude fiber is found in the methods published by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1992); however, there is no official technique for chitin determination. There are, however, other types of analytical techniques: enzymatic and basic-acid digestion. Basic-acid digestion can be conducted through residual calcination or determining the nitrogen residual (chitin) (Black and Schwartz, 1950; Castillo, 1991; Voss-Foucart *et al.*, 1978; Garzón, 1993; López *et al.*, 1982; Pierce *et al.*, 1969; Spinelli *et al.*, 1974; Voss-Foucart and Jeuniaux, 1978). Thus, the objective of the present study was to determine the similarities and differences between the official technique for determining crude fiber and an easily adapted, standardized and managed technique (Black and Schwartz, 1950) similar to the one used for determining crude fiber (AOAC, 1992), in different samples of red crab meal.

MATERIALS AND METHODS

Description of the sample

The sample was taken from aboard the *B/O El Puma* in the west coast of Baja California Sur during the summer of 1992, at an average depth of 200 m. It includes bright-red colored females and males. Once the capture was completed, the species were separated. The red crab was randomly sampled, washed in salt water

Sur, durante el verano de 1992, a una profundidad promedio de 200 m. Incluye hembras y machos de color rojo brillante. Una vez realizada la captura se efectuó una separación de especies. La langostilla se muestreó al azar, se lavó con agua de mar y se congeló. En tierra, se secó en estufa a 60°C y finalmente se molvió hasta 0.5 mm de tamaño de partícula.

Técnicas de análisis

Los análisis químicos se realizaron en la Subdirección de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos, del Instituto Nacional de la Nutrición, Salvador Zubirán.

La fibra cruda se determinó con la técnica descrita por AOAC (1992). Con ella, a partir de muestra seca y desengrasada, se realizan dos hidrólisis: una ácida (ácido sulfúrico al 1.25%) y una básica (hidróxido de sodio al 1.25%). Se seca y pesa; finalmente, se calcina a 600° y se vuelve a pesar. La diferencia en peso corresponde al contenido de fibra cruda.

Para cuantificar la quitina se seleccionó la técnica de Black y Schwartz, citada por Gallardo (1975), debido a que en el laboratorio para análisis de alimentos se cuenta con el hidrolizador Labconco utilizado comúnmente para el análisis de fibra cruda, así como con reactivos similares a los necesarios: un ácido y una base con diferente concentración. La técnica se basa en dos hidrólisis, una con ácido clorhídrico (6.5%) y otra con hidróxido de sodio (5.0%), pero ambas soluciones más concentradas y con mayor tiempo de digestión (60 min para hidrólisis ácida y 90 min para hidrólisis básica) que en la técnica anterior. Igualmente, se lava hasta neutralidad y posteriormente se determina el porcentaje de nitrógeno del residuo (quitina), según la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1992).

Factor de conversión

Este se obtuvo a partir de la estandarización y validación de la determinación de nitrógeno de muestras de quitina pura (Chitin practical grade, pfs, de Sigma Chem.), empleando la fórmula convencional para determinar nitrógeno:

and frozen. On land, it was dried in an oven at 60°C and ground to a mesh size of 0.5 mm.

Analysis techniques

The chemical analyses were conducted in the *Subdirección de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos*, of the *Instituto Nacional de la Nutrición, Salvador Zubirán*.

The crude fiber was determined with the technique described by the AOAC (1992). With this technique, two hydrolyses are conducted using a dry and defatted sample: one acid (sulfuric acid at 1.25%) and a basic (sodium hydroxide at 1.25%). It is dried, weighed, calcinated at 600°C and weighed again. The difference in weight corresponds to the crude fiber content.

Black and Schwartz' technique, cited by Gallardo (1975), was selected to quantify the chitin since the laboratory for food analysis has a Labconco hydrolyzer which is commonly used for crude fiber analysis as well as reagents similar to those necessary: an acid and a base with different concentrations. The technique is based on two hydrolyses, one with hydrochloric acid (6.5%) and another with sodium hydroxide (5.0%), but both solutions are more concentrated and have a greater digestion period (60 min for the acid hydrolysis and 90 min for the basic hydrolysis) than in the previous technique. Similarly, it is washed until neutralized and later the percentage of nitrogen in the residual (chitin) is determined using the Kjeldahl's technique (AOAC, 1992).

Conversion factor

This was obtained from the standardization and validation of the nitrogen determined from the samples of pure chitin (Chitin practical grade, pfs, from Sigma Chem.) using the conventional formula for determining nitrogen:

$$\% N = (ml P - ml Bco) (meq N) (100) / (N) / PM$$

where *ml P* is milliliters of H₂SO₄ consumed in the problem; *ml Bco*, milliliters of H₂SO₄ consumed in the blank; *meq N*, nitrogen

$$\% N = (ml P - ml Bco) (meq N)(100)(N) / PM$$

donde *ml P* es mililitros de H₂SO₄ gastados en el problema; *ml Bco*, mililitros de H₂SO₄ gastados en el blanco; *meq N*, miliequivalente del nitrógeno; *N*, normalidad del H₂SO₄; y *PM*, peso de la muestra.

Para obtener el factor de conversión de quitina se realizó la siguiente regla de tres:

$$\begin{array}{l} 100 \text{ g de quitina}: 5.20 \text{ g de nitrógeno} \\ x: y \text{ g de nitrógeno de la muestra} \end{array}$$

Para convertir el porcentaje de nitrógeno de quitina a porcentaje de quitina es necesario multiplicar por el factor de conversión obtenido (100 g de quitina/5.20 g de nitrógeno). Simultáneamente, se calculó el porcentaje de recuperación del estándar de quitina.

Después, se realizaron las determinaciones de quitina y fibra cruda en cinco lotes de harina del crustáceo langostilla, con doce repeticiones para cada uno. En cada lote de análisis se corrió un estándar de quitina para controlar mejor la técnica. Se determinó la media y desviación estándar en cada lote y se aplicó la prueba de *t* apareada para la diferencia de medias (Steel y Torrie, 1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica de Black y Schwartz se pudo realizar en el laboratorio de alimentos, sin necesidad de equipo especial, pues se utilizó para ella el normalmente empleado en la técnica de fibra cruda (hidrolizador Labconco, kitasato conectado a vacío, filtros califonia, estufa y mufla) y el nitrógeno se cuantificó con el equipo convencional (Kjeldahl); los reactivos empleados fueron los de uso cotidiano.

El factor de conversión obtenido para la quitina pura (Chitin practical grade, pfs, de Sigma Chem.) fue de 19.23, con un porcentaje de recuperación del estándar de quitina del 98%, lo que indica la validez de la técnica. Esto significa que por cada 100 g de quitina presente en la muestra de cualquier crustáceo que se analice con la técnica descrita, se cuantificarán 98 g de quitina.

milliequivalent; *N*, normality of H₂SO₄; and *PM*, sample weight

In order to obtain the chitin conversion factor, the following simple algebraic equation was used:

$$\begin{array}{l} 100 \text{ g of chitin}: 5.20 \text{ g of nitrogen} \\ x:y \text{ g of nitrogen from the sample} \end{array}$$

In order to convert the percentage of nitrogen chitin to percentage of chitin, it is necessary to multiply it by the conversion factor obtained (100 g of chitin/5.20 g of nitrogen). The recovery rate of the chitin standard was simultaneously calculated.

Later, chitin and crude fiber determinations were conducted in five lots of red crab meal with twelve repetitions in each one. In each lot, a chitin standard was run in order to better control the technique. The mean and standard deviation of each lot were determined and the paired *t* test was applied to the mean differences (Steel and Torrie, 1986).

RESULTS AND DISCUSSION

Black and Schwartz' technique was conducted in the nutrition laboratory without the need of special equipment, since that normally used in the crude fiber technique was utilized (Labconco hydrolyzer, vacuum connected filtering flask, California filters, oven and muffle) and the nitrogen was quantified with the conventional equipment (Kjeldahl); the necessary reagents were those of everyday use.

The conversion factor obtained from the pure chitin (Chitin practical grade, pfs, from Sigma Chem.) was 19.23, with a recovery rate of 98% for the chitin standard, which indicates the validity of the technique. This signifies that for each 100 g of chitin present in the sample of any crustacean analyzed with the described technique, 98 g of chitin will be quantified.

Table 1 shows the comparative analysis of the results of crude fiber and chitin in red crab meal. Here, statistical difference can be observed (*P* < 0.05) among the means of the values obtained with both techniques; the highest are presented in the crude fiber since this

Tabla 1. Resultados del análisis de fibra cruda y quitina de harina de langostilla.**Table 1.** Results from the crude fiber and chitin analyses of red crab meal.

Lote	Fibra cruda (%)	Quitina (%)
1	12.39 ^a (0.24)	9.38 ^b (0.35)
2	14.83 ^a (0.02)	8.24 ^b (0.11)
3	11.37 ^a (0.06)	8.40 ^b (0.12)
4	11.18 ^a (0.10)	8.97 ^b (0.23)
5	11.61 ^a (0.13)	8.74 ^b (0.34)

^{a,b} Por columna, literales diferentes indican diferencia estadística ($P < 0.05$)

La tabla 1 muestra el análisis comparativo de los resultados de fibra cruda y quitina en harina de langostilla. En ella, se observa diferencia estadística ($P < 0.05$) entre las medias de los valores obtenidos con ambas técnicas; los más altos se presentaron en fibra cruda, debido a que esta técnica, por emplear soluciones muy diluidas en hidrólisis de corto tiempo, no alcanza a disolver las sales, carbohidratos complejos y alguna otra fracción de estructura compleja presente en la langostilla. La técnica de Black y Schwartz se basa en el uso del ácido clorhídrico para descalcificar el carbonato de calcio presente en el caparazón, y somete después la muestra a una digestión con hidróxido de sodio caliente para remover la materia orgánica diferente de la quitina. Por tanto, los valores fueron menores si se considera la fibra cruda como el 100% y se relaciona con la quitina obtenida. De esa manera, para los resultados de los lotes del 1 al 5, que tuvieron 75, 60, 73, 80 y 75%, respectivamente, la sobreestimación es entre 20 y 40% que, a pesar de no ser continua, es elevada, por lo que no es posible establecer una relación entre ambas técnicas.

CONCLUSIONES

Para la cuantificación de fibra cruda y quitina se deben emplear técnicas específicas a pesar de la similitud estructural entre las fórmulas

technique uses very diluted solutions in short duration hydrolysis, and it is not able to dissolve the salts, complex carbohydrates or any other part of the complex structure present in the red crab. Black and Schwartz' technique is based on the use of hydrochloric acid for decalcifying the calcium carbonate present in the shell, and later the sample is submerged in a digestion of hot sodium hydroxide for removing the organic matter present that is different from the chitin. Thus, the values were less if the crude fiber is considered as 100% and is related to the chitin obtained. In this manner, the results from lots 1 to 5, with 75, 60, 73, 80 and 75%, respectively, present and overestimation between 20 and 40% that, even though not continuous, is high, and thus it is not possible to establish a relationship between both techniques.

CONCLUSIONS

The quantification of crude fiber and chitin should use specific techniques even though the chemical formulas of chitin and cellulose are structurally similar: both form the structural part of the organisms and are considered as the indigestible portion.

The crude fiber technique overestimates this content since it does not release compounds associated with the chitin.

químicas de quitina y celulosa: ambas forman parte estructural de los organismos y se consideran la porción indigerible.

La técnica de fibra cruda sobrevalora el contenido de ésta al no liberar compuestos asociados con la quitina.

Es importante considerar, al determinar proteína cruda, que la quitina aporta nitrógeno no proteico, por lo que es necesaria la corrección correspondiente.

El porcentaje de recuperación de quitina obtenido con la técnica descrita es aceptable y confiable. El factor de conversión obtenido corresponde a quitina pura proveniente de crustáceos, por lo que esta técnica se puede emplear para analizar quitina de crustáceos. Cabe mencionar que a pesar de existir otro tipo de técnicas para el análisis de quitina, la adaptación de la técnica de Black y Schwartz se puede realizar en un laboratorio de análisis de alimentos convencionales.

AGRADECIMIENTOS

CONACYT financió parcialmente la realización de este trabajo. Se agradece a David Auriolés, del Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, la ayuda para la obtención de la muestra, y al Capitán y tripulación del *B/O El Puma*, su apoyo durante la campaña oceanográfica.

REFERENCIAS

- Akhtar, N. and Haleen, N.A. (1990). Studies on the extractor of Beta-chitin. *Chem. Sci.*, 45(1): 87-92.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1992. **Official Methods of Analysis**, 16th. Ed., AOAC, Washington, DC.
- Black, M.M. and Schwartz, H.M. (1950). The estimation of chitin and chitin nitrogen in crawfish waste and derived products. *Analyst*, 75: 185-189.
- Bod'a, K. (1990). **Nonconventional Feedstuff in the Nutrition of Farm Animals**. 1st. Ed., Elsevier Science Publishers.
- Braverman, J.B.S. (1980). **La bioquímica de los alimentos**, 1a. Ed., El Manual Moderno, México, DF.
- Carrillo, D.S., Pérez-Gil, R.F., Ávila, G.E. y Castro, G.M.I. (en prensa). La langostilla en la avicultura. En: **La langostilla: recurso potencial de México**. Auriolés Gamboa, D. (ed.), Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, México (en prensa).
- Castillo, R.G. (1991). Estudio fisicoquímico de la quitina y quitosan extraídos del caparazón de langosta (*Panulirus interruptus*). Tesis, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, BC.
- Castro, G.M.I., Carrillo, D.S., Pérez-Gil, R.F. y Calvo, C.M.C. (1994). Composición química y procesos tecnológicos. En: **La Langostilla: recurso potencial de México**. Auriolés Gamboa, D. (ed.), Centro de

Upon determining crude protein, it is important to consider that chitin supplies nonprotein nitrogen, and thus the corresponding correction is necessary.

The recovery rate of the chitin obtained with the technique described is acceptable and reliable. The conversion factor obtained corresponds to pure chitin that comes from the crustaceans, and thus this technique can be used to analyze crustacean chitin. It should be mentioned that even though other types of techniques exist for analyzing chitin, Black and Schwartz' technique can be adapted and used in a conventional food analysis laboratory.

ACKNOWLEDGEMENTS

CONACYT partially financed the realization of this study. Thanks to David Auriolés from the *Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur* for his help in obtaining the sample, and to the Captain and crew of the *B/O El Puma* for their help during the oceanographic trip.

English translation by Jennifer Davis.

- Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, México (en prensa).
- Dall, W. and Moriarty, D. (1983). Functional aspects of nutrition and digestion. In: D.E. Bliss (ed), **The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation.** Vol. 5, Academic Press Inc., London LTD.
- Gallardo, N.Y. (1975). Aprovechamiento integral de la "langostilla" *Pleuroncodes planipes*. Tesis de licenciatura, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, DF.
- García, C.F. (1992). The digestive proteases of langostilla (*Pleuroncodes planipes*, Decapoda): their partial characterization, and the effect of feed on their composition. **Comp. Biochem. Physiol.**, 103B(3): 575-578.
- Garzón, S.M.L., Romero, M.A., James, M.G. (1993). Quítina y quitosan para uso farmacéutico. **Rev. Mex. Cienc. Farmac.**, 24(4): 75
- Ghidalia, W. (1985). Structural and biological aspects of pigments. In: D.E. Bliss (ed.) **The Biology of Crustacea** Vol. 9, Academic Press Inc., London LTD.
- Goffinet, G. and Compere, P. (1986). Pore canals and organization of chitinproteins in the cuticle of the crab *Carcinus maenas*. In: Mazzarelli, Jeniaux and Gooday (eds.) **Chitin in Nature and Technology.** Int. Conf. on Chitin and Chitosane, Italy, pp. 37-43.
- Jiménez, B.F.J. (1978). Industrialización de la langostilla (*Pleuroncodes planipes*) para consumo humano y animal. Tesis de maestría, Escuela de Ciencias Marinas y Alimentarias, ITESM, Guaymas, Sonora.
- Karnicki, Z.S. (1981). **Possibilities for Utilization of Langostilla (*P. planipes*) and Ways of Approach the Problem in Mexico.** Fishery Industry Officer, Rome.
- Kato, S. (1974). Development of the red crab (Galatheidae, *Pleuroncodes planipes*) fishery in the Eastern Pacific. **Ocean Marine Fisheries Review**, 36(10): 1-10.
- López, G.J.A., Arvizu, J., Gallardo, Y. (1982). Recurso Langostilla. **Reunión Nacional Sobre Investigación Científica Pesquera.** Cocoyoc, Morelos, México, 26-28 de mayo.
- Pierce, R. Van der Veen, J. and Olcott, H.S. (1969). Proximate and lipid analysis of krel (Euphasia superba) and red crab (*Pleuroncodes planipes*). **J. Agr. Food Chem.** 17(2): 367-369.
- Rocha, M.S.G., Munguía, B.V., Casillas, H.R., Portillo, C.G. y Magallón, B.F. (1988). Utilización de harina de langostilla *Pleuroncodes planipes* en la formulación de dietas para engorda semiintensiva de *Paneus californiensis*. **Memorias VII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica**, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México.
- Roer, R. and Dillaman, R. (1984). The structure and calcification of the crustacean cuticle. In: **Mechanisms of Calcification in Biological Systems.** Vol. 2, No. 4, USA, pp. 893-909.
- Spinelli, J., Lehman, L. and Wieg, D. (1974). Composition, processing and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural feed ingredient. **J. Fish. Res. Board of Canada**, 31(6): 1025-1029.
- Steel, P.G. y Torrie, J.H. (1986). **Bioestadística, principios y procedimientos.** 2a. Ed., Mc Graw Hill, México.
- Stevenson, J.R. (1985). Dinamics of the integument. In: D.E. Bliss (ed.). **The Biology of Crustacea.** Vol. 9, Academic Press Inc., London LTD.
- Van Soest, P.J. and Robertson, J.B. (1977). What is fiber and fiber in food? **Nutr. Rev.**, 35: 12.
- Voss Foucart, M.E. and Jeuniaux, C. (1978). Comparative study of the principal and membranous layers of the cuticle in six species of decapods. **Arch. Zool. Exp. Gen.**, 119(1): 127-142.
- Voss Foucart, M.F., Barzin, S., Jeuniaux, C. and Bussers, J.C. (1978). Comparative study of the chemical composition of flexible and hard parts of the cuticle in four species of cipunculids. **Can. Biol. Mar.**, 19(2): 135-145.