

2436



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia

ELABORACION Y ESTANDANZACION DEL  
ALMIDON HIDROLIZADO DE PAPA  
(*Solanum tuberosum*) PARA DETERMINAR  
MARCADORES BIOQUIMICOS SANGUINEOS  
EN ANIMALES

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
FRANCISCO JAVIER BASURTO ALCANTARA

Asesores : M. V. Z. Aurora Velázquez Echegaray  
M. V. Z. Sonia Magnus Corral  
M. V. Z. Angel Retana Reyes



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## C O N T E N I D O

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	9
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	12
LITERATURA CITADA.....	15
FIGURAS Y CUADROS.....	21

## R E S U M E N

BASURTO ALCANTARA, FRANCISCO JAVIER. Elaboración y estandarización del almidón hidrolizado de papa (Solanum tuberosum), para determinar marcadores bioquímicos sanguíneos en animales.

La actual crisis económica de México ha motivado la búsqueda de una tecnología nacional para la elaboración de reactivos. Uno de los reactivos más usados en la determinación de marcadores bioquímicos y otras proteínas es el almidón hidrolizado de papa. En el presente trabajo se realizó la elaboración y estandarización de un lote de almidón hidrolizado de papa en el laboratorio de Inmunogenética y se determinó su sensibilidad para identificar transferrinas séricas en animales domésticos comparado con el almidón hidrolizado de papa importado, no encontrando diferencias significativas a un  $P < 0.05$ .

## I N T R O D U C C I O N

Las técnicas de electroforésis en geles de almidón han sido un excelente método empleado desde 1955 para la determinación de variantes proteínicas en sangre (23, 41, 42).-- Tales técnicas son ampliamente usadas en los laboratorios -- dedicados a la tipificación de grupos sanguíneos solubles -- principalmente de bovinos y equinos, para determinar así la legitimidad de becerros y potros concebidos artificialmente (11, 13, 26, 43 ).

El primer sistema de electroforésis fué creado por Tiselius en 1937, el cual consiste en pasar una corriente directa a través de un medio líquido (electroforésis libre),-- logrando con esto la migración de partículas ionizadas hacia los electrodos (48).

Posteriormente, en 1955 un segundo sistema de electroforésis en un medio semisólido de almidón hidrolizado de papa (A. H. P.) fué utilizado por Smithies (electroforésis zonal), quien realizó la separación de proteínas séricas humanas (41). Al observar las ventajas que ofrecía, otros investigadores la usaron para determinar variantes genéticas en diversos sistemas proteínicos, tales como: hemoglobinas, -- haptoglobinas, transferrinas, albúminas, pre-albúminas, -- post-albúminas, anhidrasa carbónica, catalasas, estearasas, fosfatasa ácida, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, etc. (2, 4, 7, 14, 15, 20, 27, 30, 31, 39, 40, 45, 46), dándose cuenta de que algunos de estos sistemas podían ser altamente polimórficos y por lo tanto estar relacionados con características fenotípicas que permitieran identificar diferencias -- entre especies, razas, productividad, etc.. Dentro de los -- trabajos realizados se encuentran las aportaciones de investa

tigadores como:

Braend y Stormont quienes en 1964 describieron por primera vez las transferrinas (Tf) de equino, resultando ser las más notables y útiles para la identificación de un individuo (14, 43). Los fenotipos comprendidos en el sistema de Tf equinas se heredan siendo controlados por alelos codominantes, y hasta la fecha se han reportado 6 alelos denominados D, F, H, M, O, R, los cuales se combinan formando 21 genotipos, cada uno de ellos produce un fenotipo identificable (14). Así mismo se ha podido observar que estos alelos se encuentran asociados, en diferentes frecuencias a las razas equinas (3, 4, 12). Otro sistema de importancia en esta especie son las albúminas en el que se han identificado 3 fenotipos A, AB y B (4, 20, 43). Stormont menciona que los alelos de este sistema, aunque varían sus frecuencias de raza a raza, estos se encuentran en equilibrio en la mayoría de los casos (43).

En bovinos, el sistema de Tf está formado por 4 alelos codominantes dando así lugar a 10 fenotipos, siendo este sistema probablemente el más usado por los laboratorios, principalmente para la verificación de paternidad (11, 13). Sin embargo, varios investigadores como Ashton y col. obtuvieron las frecuencias de Tf AA, AD y DD asociándolas a la producción de leche y al período de lactación (6, 8, 9, 19) Fowle y col. en 1967, encontraron distintos niveles de la enzima glutatión peroxidasa, correspondiendo el mayor a los animales con Tf AD (18). Magnus en 1981 observó que los minerales como el selenio, están asociados al fenotipo de Tf en bovinos de la raza holstein (29).

Imlah en 1970 detecta la presencia de la Tf C en cerdos asociada a un factor letal (24).

Olivan en 1983 demuestra la asociación de las Tf con la ganancia de peso en ovinos de la raza corriedale (32).

Juneja y col. en 1981 describen la frecuencia de las Tf de varias razas de perros y las compara con las de los lobos (Canis lupus), encontrando una variación mínima entre ambas especies (26). Tanabe y col. en 1974 encuentra variantes fenotípicas de la isoenzima leucina amino-peptidasa en relación con la clasificación de las razas caninas y en 1978 reporta que la hemoglobina A solo está presente en caninos de razas japonesas (46, 47). Naik y col. analizaron la importancia clínica y genética que implica la detección de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y hemoglobina en perros (30).

Vyshisky y Muraviev analizan las Tf séricas de pollos (49). Stratil en 1970 reporta el polimorfismo genético en diversos sistemas diferenciando razas y poblaciones de pollos (44). Rashid describe las ovotransferrinas de huevos de gallinas en 1981 (36). Kimura y col. en 1982 compara las poblaciones silvestres y domésticas de codornices (Coturnix coturnix), encontrando una variabilidad genética mayor en las segundas (28). Brown y col. en 1970, indican que la enzima glutatión está en función tanto del tipo de Tf como de la edad en pichones (Columba livia domestica) (16).

Respecto al estudio de variantes proteínicas en diversos sistemas de marcadores bioquímicos en otras especies tenemos como ejemplo al mono rhesus (Macaca mullata) en el que se encontró una relación entre el tipo de Tf, edad y época del año asociadas a los niveles de la enzima glutatión peroxidasa (16). Al-Ghamas describe las Tf de salmones (Salmo salar) (1). Ananthakrishnan y col. observaron las variantes genéticas de la fosfatasa ácida en focas (Zalophus-

californianus) (2).

El análisis para la identificación de otras proteínas como las de origen vegetal, toxinas bacterianas, subclases de anticuerpos, leche, entre otras, puede realizarse fácilmente en A. H. P. (5, 23, 33, 34, 50). Además de que esta técnica en algunos casos es más eficaz que las inmunológicas que son usadas para determinar diversos sistemas de grupos sanguíneos los cuales son altamente costosos y complejos (43).

La cantidad y calidad de almidón está influenciada por factores como clima, condiciones del suelo, variedad de la papa, etc.. En países como Alemania, el rendimiento promedio de almidón se encuentra entre el 25 y 40%, mientras que en los Estados Unidos es del 10 al 12% (35).

Actualmente México está pasando por una crisis económica con la cual se ven afectadas diversas áreas. El área médica a nivel de investigación y diagnóstico requiere de la importación de la mayoría de los reactivos de laboratorio dentro de los cuales se incluye el A. H. P.. Una forma de poder continuar con el desarrollo de esta área, es contando con una tecnología propia para la elaboración de reactivos, logrando así una autosuficiencia del material importado al igual que un menor costo en la realización de las actividades que comprenden las ciencias médicas.

Los objetivos de este trabajo fueron: Elaborar y estandarizar a nivel de laboratorio un gel de almidón hidrolizado de papa y comparar su sensibilidad, especificidad en la detección de proteínas correspondientes al sistema de Tf, así como el porcentaje promedio de producción de almidón, costos y accesibilidad con el A. H. P. comercial importado.

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

Se utilizaron 2 lotes de almidón hidrolizado de papa - (A. H. P.) identificados como lote A y B. El primero se usó como control y se elabora comercialmente, el segundo se produjo en el laboratorio y fué el experimental.

### PRODUCCION DE A. H. P.

Constó de tres fases:

Fase 1.- Extracción. Se siguió la técnica descrita por Radley (35), la cual se describe en la figura # 1, misma que es un diagrama modificado de la técnica original para poder ser adaptado al laboratorio. Para este proceso se utilizaron papas de la variedad blanca con un peso entre 200 y --- 350 gramos.

Fase 2.- Hidrólisis. Se siguió la técnica descrita por Smithies (41), con la siguiente variación. Se determinó el -- tiempo óptimo de hidrólisis mediante el cálculo de la curva normal testigo (CN 1) en espectrofotometria

#### DETERMINACION DE LA CURVA NORMAL TESTIGO (CN 1)

Se obtuvieron las lecturas de la espectrofotometria del lote A, haciendo un barrido de 675 a 525 nm (+). El pico máximo debe quedar entre los 583 y 587 nm. Para realizar la lectura se siguió la técnica de García Maya, que consistió en: pesar 0.025 g de almidón y diluirlos en 2.5 ml de agua destilada para ponerlo en ebullición durante 1.5 minutos, pos-

(+) Hamabata, Alberto; Comunicación personal. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México, D.F.

teriormente se aforó a 10 ml con agua destilada. De esta -- solución se tomaron 0.2 ml que se mezclaron con 10 ml de la solución de  $I_2KI$  diluida 1:200 (Iodo sublimado 0.2 M, Yoduro de potasio 2.4 M). Se procedió a leer la muestra en un -- espectrofotómetro de ajuste automático con graficador (Perkin-Elmer 552A UV/VIS) (21).

#### TECNICA DE MUESTREO DURANTE EL PROCESO DE HIDROLISIS

Se tomó una muestra de 40 g del lote B y antes de iniciar -- el proceso de hidrólisis se comparó con la CN 1, posteriormente se realizaron muestreos a intervalos de 10 minutos has ta determinar el tiempo óptimo de hidrolizado tomando como base el pico de la CN 1. Como estas muestras se encuentran en suspensión de 1:2 (P/V) en acetona, su lectura se efec-- tuó con la siguiente técnica: Tomando 1 ml de la suspensión se diluyó en 9 ml de agua destilada, sometiendo a ebullición. De aquí se usaron 0.5 ml para hacerlos reaccionar con la solución de  $I_2KI$  (21,+). Determinando así en el espectro fotómetro la CN 2 que al ser comparada con la CN 1 nos dió el tiempo óptimo de hidrolisis para el lote B (+).

Una vez determinado este tiempo se finalizó el proceso descrito por Smithies (41).

El control de calidad se efectuó a lo largo de todo el proceso de hidrolizado comparando constantemente las 2 curvas, CN 1 con CN2.

Fase 3.- Estandarizado. Se determinó la concentración óptima de A. H. P., tomándose como base inicial las recomendadas por Smithies ( de 10 a 16 g por cada 100 ml de solución a--

(+) Hamabata, Alberto; Comunicación personal. Centro de Investigación y de estudios avanzados del IPN, México, 1984.

mortiguadora) (41, 42), usando muestras de sueros tomados - al azar de las siguientes especies animales: bovinos, porcinos y caninos (10, 17, 24, 39)

#### TECNICA DE ELECTROFORESIS

Se realizaron las técnicas descritas por Gelderman, Poulik y Bailey, en geles de almidón para la separación del sistema de Tf séricas (10, 22, 34).

#### ANALISIS ESTADISTICO

Al encontrar diferencias entre las lecturas de los geles elaborados con A. H. P. del lote A y B se calculó el valor - de Ji cuadrada para determinar si estas fueron significativas (37).

#### CALCULO DE COSTOS DE PRODUCCION

Se hizo el calculo de costo por Kg de A. H. P. producido, - tomando en cuenta los siguientes puntos:

I.- Materia prima y reactivos. (papas, acetona, ac. clorhídrico, acetato de sodio).

II.- Equipo. (Espectrofotómetro, estufa)

III.- Varios. (Matraz, vasos de precipitado, agitador magnético, cubetas, etc.)

IV.- Mano de obra. (Sueldo mínimo: \$ 24, 806. 40)

## R E S U L T A D O S

La cantidad de almidón que se logró obtener en este -- trabajo, con el proceso descrito por Radley, fué del 11%.

En la figura # 2 se muestra la determinación de la CN-2 (longitud de onda 585 nm) a partir de una muestra basal -- del lote B y su respuesta comparada con la CN 1 (longitud -- de onda 584 nm) del lote A. La separación de 1 nm entre los dos picos no dió cambios fisicoquímicos al utilizar el A. -- H. P. lote B durante la electroforésis de variantes proteí-- nicas. En esta figura se indica la absorbencia entre las 2 CN (lote A: 0.655 D. O.; lote B: 0.620 D. O.) mostrando una diferencia de 0.035 D. O., variación debida a la concentra-- ción de A. H. P. en las lecturas (+). Esta variación fué -- controlada durante el proceso de secado del almidón (tempe-- ratura promedio de 75°C).

La figura # 3 corresponde a la fotografía del gel pilo-- to demostrando la separación de las proteínas. Los fenoti-- pos identificados fueron AA y DD para los casos 12 y 13 de bovinos respectivamente, el resto de los casos correspondie-- ron a los caprinos, encontrándose 3 fenotipos AA, AB y BB -- (10, 31).

Los resultados del análisis comparativo entre el lote A y B se muestran en el cuadro # 1.

El análisis se realizó mediante la comparación de los resultados en los patrones electroforéticos de las varian-- tes proteínicas del sistema de Tf en la especie bovina, por

(+) Hamabata, Alberto; Comunicación personal. Centro de In-- vestigación y de Estudios Avanzados del IPN, México, D.F. 1984.

cina y canina. Los muestreos se realizaron al azar sometiendo a electroforé<sup>s</sup>is el mismo grupo de muestras problema en los dos tipos de geles (A y B) y la lectura de ambos se realizó por separado anotando los fenotipos identificados, para finalmente compararlos. Se consideró al lote A como patrón (100% de aciertos).

El grupo de muestras de la especie bovina, constó de 42 sueros encontrándose un porcentaje total de diferencias del 7.2 %. Dicho porcentaje resultó por la identificación de un caso AE (2.4%) y de 2 casos DD (4.8%) en el lote B, sumándose por lo tanto un 92.8% de aciertos. Para descartar una posibilidad de error se sometió a un nuevo análisis la muestra problema identificada como AE en un gel con A. H. P lote A, registrando la lectura final como AE con lo que se aumentó un 2.4% de acierto para el lote B. La diferencia causada por 2 casos DD no pudo ser confirmada por falta de muestra.

Dentro del grupo de muestras de porcinos y caninos no se observaron diferencias, además de que ambos resultados están de acuerdo con las frecuencias fenotípicas reportadas por Im<sup>l</sup>ah, y Juneja y col. en dichas especies respectivamente (24, 26).

En el cuadro # 2 se muestra la tabla de contingencia para determinar si las diferencias de las lecturas entre los geles eran significativas. Dicho análisis se realizó exclusivamente utilizando el sistema de Tf bovinas ya que en las otras especies no se detectaron diferencias. Para calcular el valor de Ji cuadrada se tomó a  $n = 41$ , eliminando únicamente el caso AE. No se encontraron diferencias significativas a un  $\alpha = 0.05$ .

Dada la alta sensibilidad que presentó el A. H. P. lote B se utilizó en pruebas de rutina remitidas al laboratorio.

El cuadro # 3 muestra los fenotipos de Tf, hemoglobi--nas (Hb) y albúminas (Alb) identificados en los geles de A. H. P. del lote B de las especies: bovina, porcina, equina, caprina, ovina y canina, registrandose el número de casos, sistema trabajado, fenotipo y razas por especie. En todos - estos casos se encontró una correlación con lo reportado en la literatura (10, 14, 17, 20, 24, 26, 30, 38).

En el cuadro # 4 se describen en IV etapas los costos de producción por Kg de A. H. P.: I= Materia prima y reactivos, II= Equipo, III= Varios, IV= Mano de obra, llegando a un valor de 22.96 dolares U. S..

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La técnica de extracción del almidón de papa resultó ser de fácil adaptación al laboratorio, obteniéndose un 11% de producción, que en relación con las cantidades promedio de los Estados Unidos se considera que el rendimiento en este trabajo fué aceptable.

Smithies (41, 42) en su técnica para realizar la hidrólisis del almidón de papa recomienda un tiempo de 45 minutos, controlando la calidad de este mediante el análisis de un gel (13.0 g de A. H. P./100 ml de 0.023 N de ac. bórico, 0.0092 N de hidróxido de sodio), para determinar cambios en su viscosidad en un amilógrafo de Brabender durante su preparación (41, 42).

A falta de un amilógrafo con las características necesarias y viendo que en el laboratorio se contaba con un espectrofotómetro (Perkin-Elmer 552A UV/VIS), se tuvo que adaptar la técnica usando el método para medir amilasas en espectrofotómetro descrito por García Maya (21) resultando así que con la sola determinación de una CN testigo se podía controlar la calidad y tiempo ideal del hidrolizado del lote B sin necesidad de determinar la viscosidad. Esta implementación superó a la técnica tradicional de Smithies ya que permite trabajar al lote experimental independientemente de la variedad de papa y controlar la calidad de hidrólisis mediante espectrofotometría. Una vez que se concluyó el proceso de hidrólisis se preparó un gel piloto con 12% de almidón para determinar la separación electroforética de variantes proteínicas en el sistema de Tf de bovinos y caprinos (10, 30, 42).

El uso del sistema de Tf resultó ser idóneo para la estandarización del gel, lograndose cubrir todas las exigencias que implica el análisis de este sistema, tales como un adecuado gelificado, alto poder de resolución, etc., y partiendo de esta base, consecuentemente se observó que otros sistemas podían ser identificados sin ningún problema (Alb, Hb, etc.).

La determinación de Ji cuadrada demostró (P 0.05) que no había diferencias significativas entre las lecturas de los geles usados para la estandarización. Las pocas diferencias que se identificaron en el sistema de Tf de bovinos no se consideraron importantes ya que pudieron deberse a errores técnicos como: mal manejo de muestras durante su procesamiento, cambios en la temperatura ambiental y pH, afectando la separación de las proteínas y dificultando la lectura, etc. (10, 42). Cabe mencionar que la presencia en algunas especies de sistemas tan polimórficos como el de las Tf, -- aumenta el índice de error al hacer las lecturas (10).

Una vez estandarizado y demostrada la alta sensibilidad del lote B, fué destinado para ser utilizado en pruebas de rutina en la identificación de Tf, Hb y Alb en muestras problema remitidos al laboratorio de Inmunogenética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U. N. A. M..

En lo que respecta a los objetivos de comparar costos y tiempo para la disponibilidad del almidón se pudo ver lo siguiente: en general la producción de A. H. P. a nivel de laboratorio fué rápida y de menor costo que el A. H. P. comercial importado ya que el valor por Kg del segundo asciende a 39.00 Dlls. U. S. incluyendo los gastos de importación

mientras que el valor del primero fué de 22.96 Dlls. U. S.. la diferencia de 16.01 Dlls. U. S. se debió principalmente a la excención en pagos extras por concepto de gastos de -- importación, además de que 1 Kg de almidón se produce en un período de 20 horas repartidas en 8 días, y un kilogramo de almidón importado tarda en llegar de 3 a 6 meses.

Actualmente ya se ha dado apoyo a otros trabajos de -- tesis utilizando el A. H. P. producido en el laboratorio de Biología Molecular e Inmunogenética de la F. M. V. Z. de la U. N. A. M. con buenos resultados.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Al-Ghamas, A. M. A.: The transferrin in the atlantic -- Salmon (Salmo salar L.). Index to Theses, 27: 243 (1980).
- 2.- Ananthakrishnan, R. and McDermid, E. M.: Two possible - genetic variants of red cell acid phosphatase in seals. -- Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 2: 113-114, (1971).
- 3.- Ariza, A.: Las transferrinas como marcadores geneticos en caballos. Arch. de Zoot., 28: 51-58, (1979).
- 4.- Ariza, A., De Andres, D. F., Aguilar, P., Alvarez, A. y Garzon, R.: Polimorfismos bioquímicos en caballos. Arch. de Zoot., 28: 221-239, (1979).
- 5.- Arriola, B. J.: Variaciones entre las proteínas del suero lácteo de vacas sanas y con mastitis estudiadas por electroforésis zonal. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 1969.
- 6.- Ashton, G. C.: B-globulin polymorphism and economic factors in dairy. J. Agric. Sci., 54: 321-328, (1960).
- 7.- Ashton, G. C.: Polymorphism in the serum post-albumins of cattle. Nature, 198: 1117-1118, (1963).
- 8.- Ashton, G. C., Fallon, G. R. and Shuterland, D. N.: -- Transferrin type and Milk and butterfat production in dairy cows. J. Agric. Sci., 62: 27-34, (1964).
- 9.- Ashton, G. C. and Hewetson, R. W.: Transferrin type and milk yield in dairy cattle. XIth European Conference on -- Anim. Blood Grps. and Biochem. Polymorphism. Warsaw, July 2nd-6th, 1968.
- 10.- Bailey, L. F. and Kiddy, C. A.: Resolution of cattle - transferrin in starch gel at pH 6.3. Anim. Blood Grps. and

Biochem. Genet., 3: 245-247, (1972).

11.- Baker, A. and Manwell, C.: Chemical clasification of - cattle. 1 Breed groups. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet. 11: 127-150, (1980).

12.- Biagi, G. and Mengozzi, G.: Characterization of horse populations by blood polymorphism. Ann. della Fac. di Med. Vet. di Pisa , 31: 235-241, (1979).

13.- Braend, M.: The use of blood in bovine disputed parentage cases. Cornell Vet. , 46: 83, (1956).

14.- Braend, M. and Stormont C.: Studies on hemoglobin and transferrin types of horses. Nord. Vet. Med. , 16: 31-37, -- (1964).

15.- Braend, M.: Irregular transmissions in the acidic pre-albumin (Pr) system of the horse. Anim. Blood Grps. and -- Biochem. Genet. , 11: 109-112, (1980).

16.- Brown, R. V., Goodman, M. and Gavan, J. A.: Glutathione and Tf in rhesus monkeys. Anim. Blood Grps. and Biochem. -- Genet. , 1: 189-194, (1970).

17.- Pésúls, L. and Rasmusen, B. A.: Transferrin types and - litter size in the pig. Anim. Blood Grps. and Biochem. Gen. 2: 57-58, (1971).

18.- Fowle, K. E., Cline, J. H., Klosterman, E. W. and Parker G. F.: Transferrin genotypes and their relationship --- with blood constituents, fertility and cow productivity .- J. Anim. Sci. , 26: 1226-1231, (1967).

19.- Gahne, B.: Studies of transferrins in serum and milk - of Swedish cattle. Anim. Prod. , 3: 135-145, (1961).

20.- Gahne, B.: Studies on the inheritance of electrophoretic forms of transferrin, albumins, pre-albumins and plasma estearases of horses. Genetics , 53: 681-694, (1966).

- 21.- García Maya, M. M.: Control post-transcripcional del ácido abscísico sobre la síntesis de alfa-amilasa en aleurona de trigo. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, - México, D. F., 1982.
- 22.- Gelderman, H.: An improved method for horizontal starch gel electrophoresis. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 1: 229-234, (1970).
- 23.- Gordon, A. H.: Electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida y de almidón. Editado por "El Manual Moderno S. A.", 1975.
- 24.- Imlah, P.: Evidence for the Tf locus being associated with an early lethal factor in a strain of pigs. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 1: 5-13, (1970).
- 25.- Juárez, J. C.: Polimorfismo genético de proteínas séricas de equinos y su utilización en la comprobación de la paternidad. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., --- 1969.
- 26.- Juneja, K. and Christensen, K.: Frequencies of transferrin types in various breeds of domestic dogs. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 12: 79-88, (1981).
- 27.- Juneja, R. K. and Gahne, B.: Polimorphic pre-albumin A in pig plasma, identified as an alpha 1-protease inhibitor. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 12: 47-51, (1981).
- 28.- Kimura, M., Kato, H., Ito, S. and Isogai, I.: Genetic variation in a population of the wild quail Coturnix coturnix Japonica. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 13: -- 145-148, (1982).
- 29.- Magnus, S. M.: The association between genetic marker

in the blood of cattle and selenium levels. Tesis de maestría. Univ. of California, Davis. California, United States of America, 1981.

30.- Martínez, R.: Estudio de anhidrasa carbónica eritrocítica, transferrinas y esterasas plasmáticas y su polimorfismo genético en el ganado caprino. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 1975.

31.- Naik, S. N., Anderson, D. E., Jardine, J. H. and Clifford D. H.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, - haptoglobin and hemoglobin variants in dogs. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 2: 89-94, (1971).

32.- Oliván, J. G.: Relación entre caracteres de producción y polimorfismos genéticos asociados con caracteres de sanidad en ovinos corriedale. Tesis de Maestría. Chapingo, México, D. F., 1983.

33.- Porter, R. R.: Separation of proteins and protein subunits. Brit. Med. Bull., 22: 164-167, (1966).

34.- Poulik, M. D.: Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. Nature, 28: 1477-1479, (1957).

35.- Radley, J. A.: Starch and its derivatives. Vol. II, -- part I, 3ed Edition. edited by John Wiley and Sons Inc., -- New York, 1954.

36.- Rashid, A. M.: The location of structural difference - between ovotransferrin types A and B in hens. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 12: 241-248, (1981).

37.- Remington, R. D. and Shork, M. A.: Statistics with -- applications to the biological and health sciences. Edited by Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, United States of America, 1970.

- 38.- Sharma, S. K., Bhat, P. P. and Bhat, P. N.: Haemoglobin and transferrin polymorphism in the Muzaffarnagri breed of sheep and its crosses with corriedale. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 7:129-132, (1976).
- 39.- Shifrine, M. and Stormont, C.: Hemoglobins, Haptoglobin and transferrins in beagles. Lab. Anim. Sci., 23: 704-706, (1973).
- 40.- Simonsen, V.: Electrophoretic studies on the blood --- proteins of domestic dogs and other canidae. Hereditas, 82: 7-18, (1976).
- 41.- Smithies, O.: Zone electrophoresis in starch gels -- group variations in the serum proteins of normal adults. -- J. Biochem., 61: 629-641, (1955).
- 42.- Smithies, O.: Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins. Adv. Prot. -- Chem., 14: 65-113, (1959).
- 43.- Stormont, C.: Positive horse identification. Part 2: - blood typing. Equine Practice, 1: 48-54, (1979).
- 44.- Stratil, A.: Genetic polymorphism of proteins in different breed and different population of chickens. Anim. --- Blood Grps. and Biochem. Genet., 1: 117-122, (1970).
- 45.- Sugira, S., Tanabe, Y. and Ota, K.: Genetic polymorphism of aserine resistant esterases in canine plasma. -- Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 8: 121-126, (1977).
- 46.- Tanabe, Y., Suigira, S. and Asonoma, M.: Genetic polymorphism of leucine amino-peptidase in canine plasma. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 5: 225-230, (1974).
- 47.- Tanabe, Y., Oni, T. and Ota, K.: Genetics variants of hemoglobin in canine. Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet., 9: 79-83, (1978).

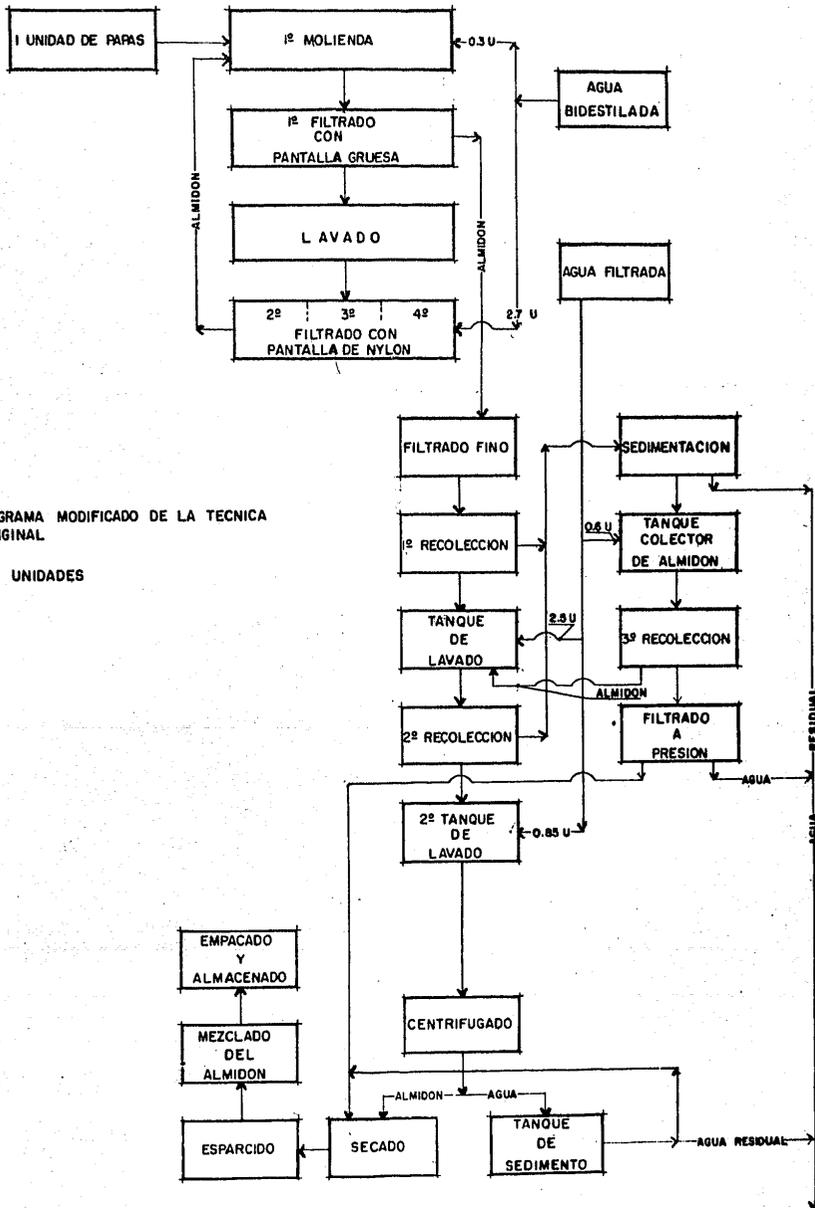
48.- Tiselius, A.: A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Trans. Faraday Soc., 33: 524-531, (1937).

49.- Vishisky, F. S. and Murayiew, V. J.: Polymorphism of chicken serum transferrin. XI European Conf. of Anim. Blood Grps and Biochem. Polymorph., pp. 425-428 (1968).

50.- Wang, A. C., Faulk, W. P., Stuckey, M. A. and Fundem-berg, H. H.: Chemical differences of adult, fetal and hypogammaglobulinemic Ig G Immunoglobulins. Immunochem., 7: 703-708, (1970).

FIGURA No. 1

PROCESO DE EXTRACCION DEL ALMIDON DE LA PAPA.

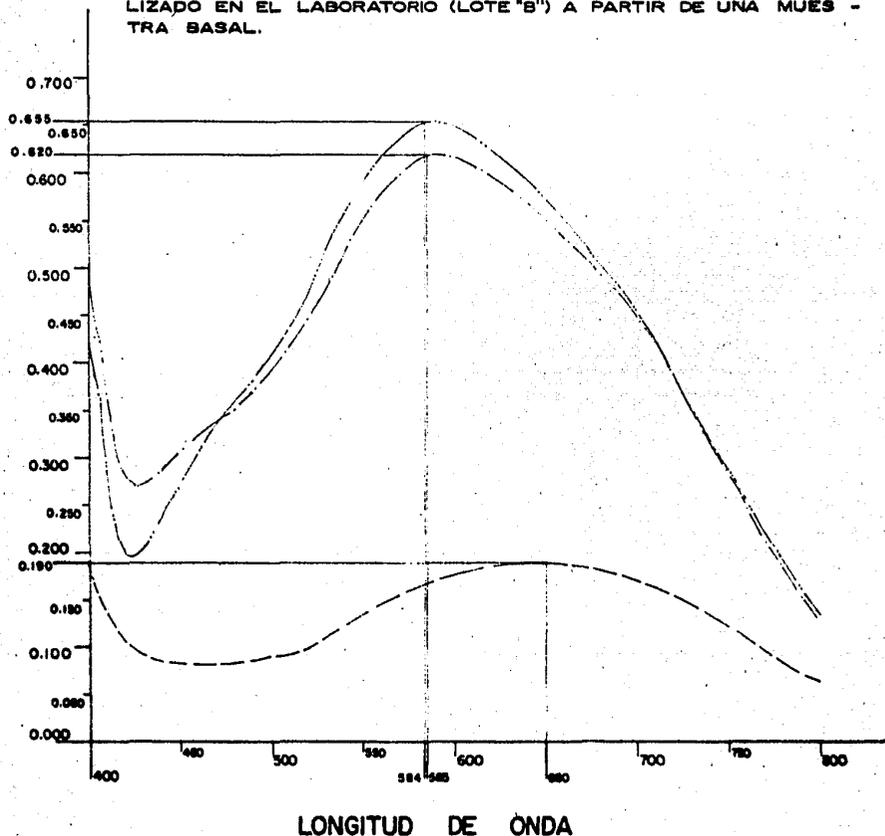


NOTA:

- DIAGRAMA MODIFICADO DE LA TECNICA ORIGINAL
- U- UNIDADES

**FIGURA No. 2**

GRAFICO DE LA ESPECTROFOTOMETRIA DEL ALMIDON HIDROLIZADO DE PAPA COMERCIAL IMPORTADO (LOTE "A") Y DEL ALMIDON HIDROLIZADO EN EL LABORATORIO (LOTE "B") A PARTIR DE UNA MUESTRA BASAL.

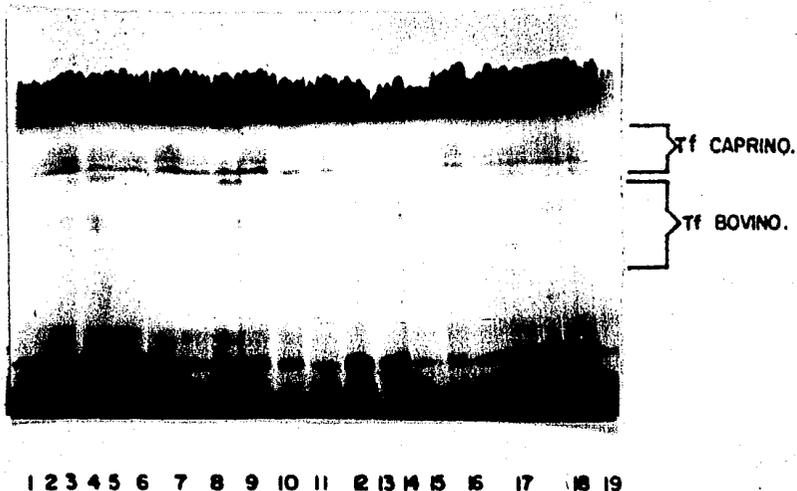


**SIMBOLOGIA:**

- CN-1 LOTE "A" (Almidon hidrolizado de papa comercial importado).
- CN-2 LOTE "B" (Almidon hidrolizado en el laboratorio).
- MUESTRA BASAL LOTE "B"

# FIGURA No. 3

FOTOGRAFIA DE LAS VARIANTES DEL SISTEMA DE TRANS -  
FERRINAS EN CAPRINOS Y BOVINOS EN EL GEL PILOTO DEL  
ALMIDON HIDROLIZADO DE PAPA PRODUCIDO EN LABORATORIO.



## FENOTIPOS IDENTIFICADOS:

- 1- AA
- 2- AB
- 3- AB
- 4- AB
- 5- AA
- 6- AA
- 7- AA
- 8- BB
- 9- AA
- 10- AA
- 11- AA
- 12- AA
- 13- DD
- 14- BB
- 15- AA
- 16- AA
- 17- AB
- 18- AB
- 19- AB

# CUADRO No. 1

ANALISIS COMPARATIVO ENTRE LOS GELES DE ALMIDON HIDROLIZADO DE PAPA DEL LOTE "A" Y "B" PARA DETERMINAR MARCADORES BIO-QUIMICOS SANGUINEOS.

		GEL "A" (1)		GEL "B" (2)		DIFERENCIAS	
		FRECUENCIA FENOTIPICA	%	FRECUENCIA FENOTIPICA	%	FRECUENCIA FENOTIPICA	%
BOVINOS	42	6 AA	14.3	5 AA	11.9	1 AE	2.4
		27 AD	64.3	25 AD	59.5	2 DD	4.8
		9 DD	21.4	9 DD	21.4		
PORCINOS	15	5 AB	33.3	5 AB	33.3		
		8 BB	53.3	8 BB	53.3		
		2 BC	13.4	2 BC	13.4		
CANINOS	5	4 BC	80.0	4 BC	80.0		
		1 CC	20.0	1 CC	20.0		

(1) LOTE "A": Almidon hidrolizado de papa comercial importado.

(2) LOTE "B": Almidon hidrolizado de papa producido en el laboratorio.

CUADRO No. 3

FENOTIPOS IDENTIFICADOS EN GELES DE A.H.P.  
DEL LOTE "B"<sup>(1)</sup>

ESPECIE	No. DE CASOS	SISTEMA	FRECUENCIA FENOTIPICA	RAZAS
BOVINOS	42	Tf	5 AA 25 AD 12 DD 1 AE	CRIOLLOS Y HOLSTEIN
PORCINOS	15	Tf	5 AB 8 BB 2 BC	LANDRACE
EQUINOS	25	Tf	10 DD 5 DF 3 FF 1 DO 3 FO 1 FR 2 OR	PURA SANGRE
	9	Alb	2 AA 2 AB 5 BB	CRIOLLOS Y PURA SANGRE
CAPRINOS	10	Tf	9 AA 6 AB 2 BB	NUBIA Y ALPINA
OVINOS	38	Hb	2 AB 36 BB	HAMPSHIRE
CANINOS	5	Tf	4 BC 1 CC	PASTOR ALEMAN, BASENJI
	20	Hb	20 BB	PASTOR ALEMAN LOBERO IRLANDES CRIOLLO

(1) LOTE "B": Almidón hidrolizado en el laboratorio

CUADRO No. 4

CALCULO DE COSTOS DE PRODUCCION DE 1 Kg DE ALMIDON HIDROLI-  
ZADO DE PAPA

I. - MATERIA PRIMA Y REAC- TIVOS	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL	CONVERSION A DOLARES
PAPAS	10 Kg.	\$ 60.00	\$ 600.00	\$ 3.00
ACETONA	3 lts.	\$ 425.00	\$1275.00	\$ 6.38
Ac. CLORHI-- DRICO	0.02 lts.	\$1400.00	\$ 28.00	\$ 0.14
ACETATO DE SODIO	0.164 Kg.	\$1460.00	\$ 255.00	\$ 1.28
<b>TOTAL</b>			<b>\$2158.00</b>	<b>\$ 10.80</b>

II. - EQUIPO (AMORTIZACION A 5 AÑOS)	TIEMPO EMPLEADO	COSTO X HORA	COSTO TOTAL	CONVERSION A DOLARES
ESPECTROFOTO- METRO (\$3390000.00)	2 hrs.	\$ 77.40	\$ 154.80	\$ 0.77
ESTUFA (\$ 70000.00)	24 hrs.	\$ 1.59	\$ 38.36	\$ 0.19
<b>TOTAL</b>			<b>\$ 193.16</b>	<b>\$ 0.96</b>

CUADRO No. 4 (continuación)

III.- VARIOS (AMORTIZACION A 2 AÑOS)	COSTO TOTAL	CONVERSION A DOLARES
MATERIAL DE CRISTALERIA, AGITADOR MAGNETICO, CUBE- TAS, ESPATULAS, etc.	\$ 200.00	\$ 1.00
TOTAL	\$ 200.00	\$ 1.00

IV.- MANO DE OBRA	TIEMPO EMPLEADO	COSTO X HORA	COSTO TOTAL	CONVERSION A DOLARES
SUELDO MINIMO (\$ 24806.40)	20 hrs.	\$ 102.00	\$2040.00	\$ 10.20
TOTAL			\$2040.00	\$ 10.20

COSTO TOTAL DE 1 Kg DE ALMIDON HIDROLIZADO DE PAPA=

\$ 10.80 + \$ 0.96 + \$ 1.00 + \$ 10.20 = \$ 22.96 Dlls. U. S.