

15
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"



“EVALUACION DE LA CALIDAD PROTEINICA DE
TRES INSECTOS COMESTIBLES DE MEXICO:
Liometopum apiculatum M. (Hymenoptera - Formicidae)
Apis mellifera L. (Hymenoptera-Apidae) Y Sphanarium spp.
(Orthoptera-Acrididae) POR METODOS BIOLOGICOS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:

NORMA ANGELICA MARTINEZ SUAREZ

DIRECTOR DE TESIS:
DR. HECTOR BOURGES RODRIGUEZ



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 está 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.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION BIBLIOGRAFICA	
	1. Datos sobre la entomofagia	4
	2. Antecedentes sobre el valor nutritivo de los insectos	7
	3. Generalidades acerca de las proteínas y métodos de evaluación de su calidad	12
	4. Características generales de tres insectos comestibles : <u>Apis mellifera</u> L., - <u>Liometopum apiculatum</u> y <u>Sphenarium</u> spp. ..	31
III.	OBJETIVOS	42
IV.	MATERIAL Y METODOS	44
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	50
VI.	CONCLUSIONES	74
VII.	BIBLIOGRAFIA	75
VIII.	APENDICES	
	1. Análisis bromatológico	82
	2. Análisis del contenido de aminoácidos	90
	3. Bioensayos	93

I. INTRODUCCION

El problema alimentario en México y en el resto del mundo es una de las principales preocupaciones de la humanidad, diversos factores lo han propiciado y continúan haciéndolo, por lo que las dificultades para solucionarlo son muchas, tales como demográficas, económicas, políticas, culturales, etc. -- (Bermudez, 1983) (Guillén, 1981) (Hernández, 1980) (Slomianski, 1983). Y como dijera Pedrero M. y Jiménez R. (Huidobro, 1983) "Las condiciones son muchas, pero ese es el reto de nuestros días" y por ello se buscan día a día nuevas alternativas de solución en forma multidisciplinaria, vinculando el trabajo científico con las necesidades sociales del país (Garrido, 1983). Pero mientras que en los terrenos de la política y economía se marcha a paso aletargado, es en el de las biociencias donde se impulsa la investigación en cuanto a los recursos faunísticos y florísticos como fuentes potenciales de alimentos (Bayona, 1964), tales como : la Spirulina maxima -alga unicelular- (Ciguerri, 1981), leguminosas silvestres (Sotelo, 1981) (Dávila, 1983) y cereales de consumo no convencional como la semilla de alegría (Amaranthus leucocarpus S.Wats) (CONACYT, 1983) diversos recursos de origen acuático como la tilapia -pez herbívoro que contiene proteínas de alta calidad- (Conconi, 1982) (Doubilet, 1981) (Gallardo, 1982), etc., de los

cuales algunos han pasado a ser actualmente alimentos comunes. También se trabaja genéticamente para obtener híbridos tanto-animales como vegetales que produzcan mayor cantidad y mejor-calidad de proteínas; nuevos tipos de cultivos, como los hi--dropónicos que rindan mayor producción de alimentos en una menor extensión de terreno. Y aunque la investigación de alimentos no convencionales no sea la panacea del problema alimentario, al menos la dieta de la población se hará más variada y-enriquecida como lo menciona Pérez Gil R.F. (en Dávila, 1983).

Cuando se pretende entender cualquier fenómeno relativo --al ser humano y en forma destacada cuando se estudia su nutrición y su salud, es indispensable tomar en cuenta la íntima y poderosa interrelación de las tres dimensiones: la biológica, psicológica y social (Giral, 1982).

Así, los hábitos de alimentación de la población deben --ser tomados en cuenta cuando se decide implementar políticas--tendientes a mejorar sus condiciones de nutrición y no tratar de introducir productos cuyas características pueden ser excelentes, pero al no estar incorporadas a la dieta habitual, corren el riesgo de no ser aceptadas (Avila, 1982), por lo que-el conocimiento del pasado histórico en diversos aspectos como son los etnoculturales, tradicionales, económicos, socia--les, demográficos, de la nutrición, tecnológicos, etc. resultan de valiosa ayuda (Bermudez, 1983). Además, aprovechar los conocimientos transmitidos por nuestros antepasados mayas, --quéchuas, aztecas, etc. sobre la exuberante flora y fauna sil

vestre de América, de fácil alcance para la mayoría de la población y fomentar su desarrollo (Bayona, 1964), para de esta manera evitar innecesarios conflictos que lesionen la tradición y la personalidad de los grupos poblacionales (INI, 1946).

La entomofagia, o sea el consumo organolépticamente selectivo de insectos, es un fenómeno sociocultural mundial y antiguamente conocido (Conconi, 1982) y que en la actualidad se sigue practicando, por lo que es importante estudiarla.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. DATOS SOBRE LA ENTOMOFAGIA

Cronológica y geográficamente se conocen algunos datos - acerca de la entomofagia, como los que a continuación se mencionan: Aristóteles comía cigarras regularmente (Dewey, 1978); los laosianos y siameses disfrutaban comiendo muchas clases de insectos, como las mariposas (Bristowe et.al., 1953); los africanos llegan a consumir hasta 58 gramos de insectos frescos o 20 g de insectos secos al día (Figuerola et.al., 1959); en muchas ciudades del sureste de Asia, los nativos cuidan los huevos y larvas de las mariposas para darlas de comer a los niños como fuente importante de proteína; en algunas partes de E.U.A., Canadá y Japón se producen hormigas y abejas en estados inmaduros para ser cubiertos de chocolate; en los lugares donde se cultiva el gusano de seda, las pupas son introducidas en agua caliente para la separación de la seda y las pupas cocidas se comen frecuentemente; muchos pobladores de las praderas indias del occidente de los E.U.A. comen regularmente langostas, después de que éstas han comido sus cosechas y lo mismo hacen los africanos (Dewey, 1978).

En México, la entomofagia data de tiempos prehistóricos; así, se sabe que tribus nómadas de hace más de diez mil años-

ya la practicaban, además de incluir otros alimentos como raíces, frutos silvestres, reptiles, etc. (Dávalos, 1966). Los aztecas también incluían en su dieta diversas clases de insectos, lo que ha quedado plasmado en los escritos de historiadores como Sahagún (1830), Clavijero (1826) y Díaz del Castillo (s/f) entre otros.

Sahagún (1830) cuenta que en la corte del emperador Moctezuma lo mismo que en la de los reyes aztecas que le precedieron, el "ahuauhtli" llamado "aguaucle" por las gentes del pueblo, que significa "semillas de agua", y que está compuesto de huevecillos de chinches acuáticas, fue introducido a Tenochtitlan por corredores nativos desde Texcoco y era preparado especialmente durante la ceremonia dedicada al dios Xiuhcutli; los conquistadores españoles le llamaron "caviar mexicano" y lo comían con huevos de ave.

Los insectos eran preparados en diversas formas: asados, fritos, etc., o bien eran comidos crudos como medicina para trastornos digestivos (Bachsteyz y Aragón, 1945).

Clavijero (1826) cuenta que el "axayacatl", que son ninfas y adultos de las chinches acuáticas, los mexicanos lo amasaban y con la pasta hacían panes que ponían a cocer en agua de nitro, en hojas de maíz.

Sahagún (1830) hace alusión a otros insectos comestibles como los estados inmaduros de algunas hormigas llamados "azcamolli"; a hormigas mieleras llamadas "nequazcatl": los "tlalo mitl", que quiere decir hueso de tierra, descritos como "unos

gusanos duros, blanquitos y que andan siempre debajo de la -- tierra y nunca se enroscan"; langostas, llamadas "acachapoli"; "gusanos de maguey" llamados "meocuili", que son blancos; "gusanos de maíz", y otros muchos. Ahora se sabe que dichos "gusanos" son larvas de insectos, en su mayoría de mariposas.

Aunque de manera dispersa y esporádica, en toda la Repú-- blica Mexicana se practica la entomofagia; existen diversas - maneras de preparar los insectos, desde crudos hasta en las - formas más complejas, siendo que todo tipo de gente los come, desde los más pobres en el medio rural, hasta en los restau-- rantes más caros de la Ciudad de México (Conconi, 1982).

2. ANTECEDENTES SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE LOS INSECTOS.

La relación que guardan los insectos con el humano en el terreno de la alimentación son variadas. Los insectos como --plaga, consumen del 10 al 15 por ciento del valor de las cosechas agrícolas del mundo y se emplean grandes cantidades de --dinero para contrarrestar los daños provocados en los diferentes estados de crecimiento de la planta y durante su almacenamiento, además de que se provoca un impacto negativo en el ambiente por el uso irracional de diversos insecticidas. Por --otra parte, los insectos benefician al humano polinizando algunas plantas cultivadas, en el caso de las abejas la elaboración de miel, y además el consumo directo de los insectos como alimento (Dewey, 1978).

Los estudios acerca del valor nutritivo de los insectos --comestibles se han realizado en forma esporádica y separada --hasta donde se sabe (Conconi, 1982). Investigadores como Blasquez (1870), Howard (1915), Ancona (1931-32), Baschstez (1945), Das (1945), Thion (1946), Basso (1947), Hoffman (1947), Au---ffret y Tanguy (1947-48), Cravioto et.al. (1951), Figueroa et.al. (1959), Defoliart (1975) y Malaise (1980), entre otros --han reportado resultados obtenidos de análisis de diversos insectos en cuanto a contenido de proteínas, sales minerales, --extracto libre de nitrógeno, extracto etéreo y vitaminas (como tiamina, riboflavina y niacina).

En México, a partir de 1974 se ha desarrollado una línea-

de investigación denominada : Los insectos como fuente de proteínas, que dirige la Dra. Julieta Ramos Elorduy de Conconi, - investigadora titular del Instituto de Biología de la UNAM en colaboración con el Dr. Héctor Bourges Rodríguez, jefe de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los alimentos en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" - en México.

Esta línea de investigación sobre los insectos comestibles se divide en las siguientes fases :

(a) Estudio del valor nutritivo; (b) ensayo de su biología; (c) ensayo de su ecología; (d) ensayo de su cultivo; (e) estudio económico, de mercado y psicológico para la aceptación del producto y (f) cultivo a escala industrial.

El objetivo central de esta línea de investigación es la obtención de una fuente de alimento a bajo costo que coadyuve a la solución del problema alimentario, además de generar una fuente de trabajo cuando se promueva en forma sistemática (industrial) (Conconi y Pino, 1980).

Actualmente se desarrollan investigaciones en todos los puntos anteriores de forma simultánea, de manera que se han rastreado hasta la fecha 101 especies de insectos comestibles en México, principalmente del centro y sur del país. La tercera parte de los insectos comestibles en México pertenecen al orden Hymenoptera, o sea el de las abejas, avispas y hormigas; otro orden es el Orthoptera (chapulines), seguido por el orden Hemiptera donde pertenecen las chinches y el orden Coleop

tera de los escarabajos; las mariposas del orden Lepidoptera y el resto en los órdenes : Homoptera (cigarras y membrácidos), Díptera (moscas y moscos). Anoplura (piojos), Odonata (libélulas) y Trichoptera (trips) (Conconi y Pino, 1984).

Se ha detectado en un buen número de insectos comestibles, un contenido proteínico del treinta al ochenta y un por ciento en el producto seco. De las sesenta y un especies analizadas, cuarenta y cinco de ellas contienen de un cincuenta a setenta y seis por ciento de proteínas en peso seco (Conconi 1982) (Conconi y Bourges, 1977) (Conconi y Pino, 1979) (Conconi y Pino, 1980). Se han realizado análisis de contenido de aminoácidos, observando que las cantidades de aminoácidos se encuentran en proporción semejante respecto al Patrón FAO/OMS - 1973, no obstante existe una limitante en cuanto a metionina y triptofano, aminoácido indispensable (Conconi et.al., 1982). En cuanto al coeficiente de digestibilidad "in vitro" se ha registrado para algunos insectos valores mayores al 61 por ciento (Conconi, Pino y González, 1981). Igualmente importantes son las cantidades de vitaminas que muchos insectos comestibles tienen, sobre todo aquéllas del grupo B, y de elementos inorgánicos como hierro, calcio, etc. (Conconi, 1982).

Respecto a evaluaciones biológicas de la calidad proteínica de los insectos comestibles se tiene lo siguiente :

Figueroa et.al. (1959) determinó la ganancia de peso en ratas después de ser alimentadas durante siete semanas con dietas equilibradas que contenían un ocho por ciento de proteí

na proveniente de : axayacatl (larvas y adultos Hemiptera-Corixidae), ahauhtle (huevecillos Hemiptera-Corixidae) y jumiles (Hemiptera-Pentatomidae); los resultados que obtuvo respecto a caseína fueron : 77.5% para axayacatl, 25% para ahauhtle y en el caso de jumiles se registró una disminución de peso y alta mortalidad.

La utilización de la larva y pupa de la mosca (Musca domestica L.) ya sea fresca o seca como alimento para aves de corral ha sido estudiada por McHargue (1917), Calvert et.al. (1969 a y b), Miller (1969), Teotia y Miller (1973 a,b y 1974) Torres (1977), Lozano (1978), Ocio y Rey (1978), Pacheco E. (1979), Pacheco A. (1980), Reyes (1980), Rey et.al. (1980) y Villasana (1981); quienes indican que dicho material puede mantener el crecimiento normal de pollos en iniciación, codornices y pavos durante la etapa de desarrollo. También se ha alimentado a peces, como el bagre (Reyes, 1975) y a cerdos (Papp, 1975).

Si bien los insectos como alimento para humanos y animales es ya un hecho y, como podemos percatarnos, los bioensayos para conocer la calidad de la proteína que se han realizado están enfocados en su mayoría para consumo animal y principalmente acerca de la mosca doméstica, sería conveniente explorar otras especies de insectos tanto para consumo animal como para humanos.

Cabe mencionar, que la entomofagia es practicada más frecuentemente en las zonas rurales que en las urbanas, y si fi-

nalmente los insectos dieran buenos resultados en cuanto a ca lidad proteínica y se quisiera generalizar su consumo urbano, cabría preguntarnos ¿qué posibilidad de aceptación habría en la población urbana?, Trejo et.al. (1974) da una respuesta po sitiva al respecto, de acuerdo a su estudio realizado en la ciudad de México.

Por otra parte, es importante considerar el aspecto de - cultivos masivos para abastecer en cierto momento la demanda, a ésto Kok (1983) propone una "Granja de Insectos" consideran do sistemas y métodos de operación que resulta prometedor. -- Además en México, aunque no con fines alimentarios, se lleva a cabo la producción masiva de insectos para estudios genéticos como Drosophila melanogaster, o para control biológico de plagas, ya sea produciendo depredadores o bien liberando indi viduos irradiados con dosis esterilizantes como sucede en Tux tla Gutiérrez, Chiapas, en donde se obtienen millones de pu--pas de mosca Cochliomyia hominivorax, etc., así como la producción de insectos que actuarán como parásitos, tal es el ca so de las avispas de la familia Chalcididae y Branconidae del orden Hymenoptera (Conconi, 1982).

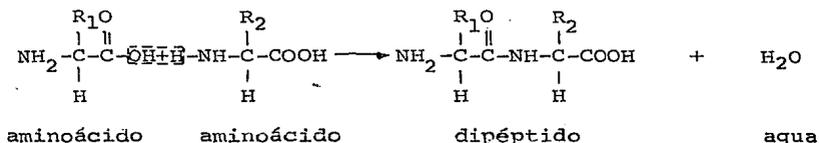
3. GENERALIDADES ACERCA DE LAS PROTEINAS Y METODOS DE EVALUACION DE SU CALIDAD.

La nutrición involucra los procesos por los cuales un organismo biológicamente activo asimila y utiliza los alimentos; los nutrimentos son los agentes químicos de los alimentos empleados por los sistemas bioquímicos y fisiológicos del organismo animal. En términos generales, las funciones básicas de los nutrimentos consisten en proveer los compuestos químicos requeridos para el crecimiento y la reparación de tejidos, -- además proporcionan al organismo animal la energía necesaria para efectuar todos los procesos bioquímicos indispensables. Por lo que el buen abastecimiento en calidad y cantidad de -- carbohidratos, lípidos, proteínas, agua, vitaminas y sales minerales es necesario para evitar transtornos en la salud.

El metabolismo global de las sustancias alimenticias se -- puede dividir en dos procesos básicamente : catabolismo y anabolismo; el primero es aquél por el cual los constituyentes -- complejos se rompen para producir sustancias más sencillas, -- proceso que libera energía en pequeñas cantidades utilizables. En el anabolismo se incluyen las rutas bioquímicas que conducen a la síntesis de las moléculas que el organismo requiere -- a partir de los productos del catabolismo, este proceso generalmente necesita de energía (Bađui, 1981)(Ganong, 1966).

Con fines prácticos respecto a los objetivos de este trabajo, sólo nos referiremos a las proteínas.

La palabra proteína se deriva del griego "proteios" y significa "ser primero". Las proteínas son biopolímeros de alto peso molecular (de aproximadamente 1×10^4 a 1×10^6 daltones) cuyos constituyentes principales son los α -aminoácidos, unidos a través de enlaces peptídicos, que se forman por una condensación entre el carboxilo de un aminoácido y el grupo amino de otro, con la consecuente eliminación de una molécula de agua.



La distribución y concentración de los aminoácidos determinan fundamentalmente las propiedades de cada proteína. Los aminoácidos que se encuentran en la naturaleza, y que tienen actividad biológica, son los de configuración L; los aminoácidos son variados, sin embargo, la mayoría de las proteínas están estructuradas solamente por veinte de ellos, de los cuales algunos son indispensables, porque forzosamente se deben obtener de la dieta, ya que bioquímicamente no se sintetizan en las cantidades requeridas por el humano, mientras que los dispensables son normalmente producidos en concentraciones suficientes por el organismo humano (por aminación de los residuos de los carbohidratos y lípidos), de tal manera que no es

tan necesaria su presencia en las proteínas de los alimentos
(Cuadro 1) (Bađui, 1981)(Lenhinger, 1975).

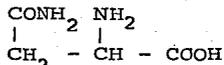
CUADRO 1.

Aminoácidos de configuración L comunmente
encontrados en las Proteínas.

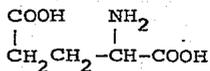
Grupo	Nombre	Fórmula
Monoamino monocarboxílico	Glicina (D)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
	Alanina (D)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
	Valina (I)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
	Leucina (I)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_3\text{CHCH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
	Isoleucina (I)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
Hidroximonoamino monocarboxílico	Serina (D)	$\begin{array}{c} \text{CH} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
	Treonina (I)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$
Monoamino dicarboxílico	Acido aspártico (D)	$\begin{array}{c} \text{COOH} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$

Monoamino
dicarboxílico

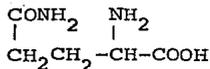
Asparagina (D)



Acido
glutámico (D)

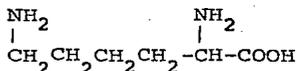


Glutamina (D)

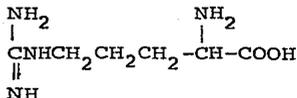


Diamino
monocarboxílico

Lisina (I)

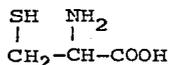


Arginina (I)^a

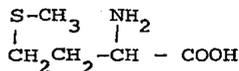


Azufrados

Cistefina (I)^b

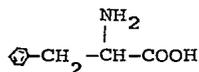


Metionina (I)

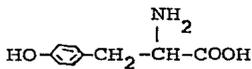


Cíclicos

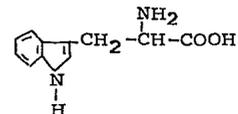
Fenilalanina (I)



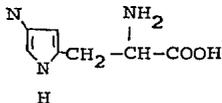
Tirosina (D)



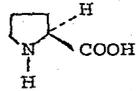
Triptofano (I)



Histidina (I)^a



Prolina (D)



I = aminoácido indispensable (Tomado de Bañui, 1981).
 D = aminoácido dispensable

a = Indispensable en niños muy pequeños
 b = Indispensable en crías de ciertas especies.

Las proteínas desempeñan un papel muy importante en las --
 funciones biológicas del organismo animal, como las que se --
 mencionan en el Cuadro 2, que muestra diferentes formas de --
 clasificación.

CUADRO 2.

Clasificación de las proteínas de acuerdo con su
 composición, forma, solubilidad y función.

Clasificación	Propiedades	Ejemplo
A. <u>Por composición</u>		
1.Simple	-Contiene sólo aminoácidos.	-Insulina
2.Conjugada	-Contiene una fracción no-proteica.	
a)Metaloproteínas	-Pigmentos	-Mioglobina y hemoglobina.
b)Glucoproteínas	-Contiene carbohidratos.	-Inmunoglobulinas, fracción 7s de la soya, caseína k, mucina.
c)Fosfoproteínas	-Contiene fós	

	foro.	-Caseínas de la leche, flavo--proteínas, pep--sina.
d) Lipoproteínas	-Contiene lípidos.	-Lipovitelina - de la yema del huevo.
e) Nucleoproteínas	-Contiene ácidos nucleicos.	-Virus y genes.
B. <u>Por forma</u>		
1. Globular	-Esféricas u ovoides.	-Albúmina de --huevo.
2. Fibrosa	-Forman fibras de tejido conectivo. Proteínas de ligamentos y tendones. Pelo, lana, --uñas, cuernos. Proteína muscular. Responsable de la coagulación de la sangre.	-Colágena Elastina Queratina Miosina y acti--na. Fibrinógeno.
C. <u>Por solubilidad</u>		
1. Albúmina	-Solubles en --agua y solucio--nes salinas.	- α -Lactalbúmina de la leche, ovoalbúmina del huevo.
2. Globulinas	-Poco solubles-- en agua, solu--bles en solu--ciones salinas.	-Miosina del mús--culo, globulina del plasma.
3. Histonas	-Alto contenido de aminoácidos básicos, no --coagulan por --calor.	-Proteínas uni--das a ácidos nu--cleicos.
4. Glutelinas	-Insolubles en--agua y alcohol Solubles en ál	-Gluten de trigo

calis y ácidos débiles.

5. Prolaminas -Soluble en 70% de alcohol. -Zafna de maíz, gliadina del trigo.

6. Escleroproteínas -Insolubles en la mayoría de los solventes. -Todas las proteínas clasificadas B.2 en esta tabla.

D. Por función

1. Estructural	-Forma parte estructural del cuerpo.	-Proteínas clasificadas como B.2
2. Enzimas	-Catalizan reacciones biológicas.	-Lipasas y proteasas.
3. Hormonas	-Mensajeros químicos.	-Insulina y glucagón.
4. Toxinas	-Proteínas dañinas, generadas por microorganismos.	-Toxina botulínica.
5. Anticuerpos	-Proteínas protectoras por el organismo.	- α -Globulina de la sangre.
6. Transporte de oxígeno	-Transporta O ₂ de los pulmones a los tejidos. Almanén de O ₂	- Hemoglobina mioglobina

Tomado de Badui, 1981.

Bourges et.al. (1970) recomiendan el consumo de proteína para la población mexicana como aparece en el Cuadro 3 ; y - la FAO/OMS 1973, recomiendan un consumo mínimo por día de los aminoácidos indispensables, y además han establecido la composición de aminoácidos de una proteína patrón con la cual se pueden comparar otras proteínas, ésto se muestra en el Cuadro 4.

CUADRO 3.

Recomendaciones para el consumo diario de proteínas.*

Edades (meses y años cumplidos).	Peso teórico (Kg) ^a	Proteínas (g)
Niños ambos sexos		
0-3 meses	-	2.3/Kg
4-11 "	-	2.5/Kg
12-23 "	10.6	27
2-3 años	13.9	32
4-6 "	18.2	40
7-10 "	26.2	52
Adolescentes masculinos		
11-13 años	39.3	60
14-18 "	57.8	75
Adolescentes femeninos		
11-18 años	53.3	67
Hombres		
18-34 años	65.0	83
35-54 "	65.0	83
55 y más años	65.0	83
Mujeres		
18-34 años	55.0	71
35-54 "	55.0	71
55 y más años	55.0	71
Embarazadas	-	10
Lactantes	-	30

a = Pesos para la edad central del período.

* = Para individuos normales con la dieta en las condiciones de México.

CUADRO 4.

Recomendaciones de la FAO/OMS 1973 sobre el consumo mínimo de aminoácidos, y patrón de referencia.

Aminoácido	Infantes (mg/Kg)	Mujer adulta (mg/día)	Hombre adulto (mg/día)	Patrón de refe rencia de la - FAO/OMS 1973 - (g de aminoáci do/100g de pro teínas).
Isoleucina	70	550	700	4.0
Leucina	161	730	1100	7.0
Lisina	103	545	800	5.5
Metionina + Cistina	58	700	1100	3.5
Fenilalanina + tirosina	125	700	1100	6.0
Treonina	87	375	500	4.0
Triptofano	17	168	250	1.0
Valina	93	622	800	5.0

Cuando una proteína tiene una composición de aminoácidos - indispensables de manera que la proporción de alguno de ellos es menor que la de la proteína de referencia, se dice entonces que este aminoácido es "limitante".

Como se sabe, en la naturaleza no existe un sólo alimento con la composición "ideal" de aminoácidos, ni de los otros nutrientes requeridos para satisfacer las necesidades orgánicas, por lo que para conseguir este fin se deben consumir una gran variedad de alimentos que contengan los diferentes nutrientes.

El animal transforma los alimentos a través de su sistema digestivo en sustancias de bajo peso molecular; el proceso de utilización de los alimentos se puede dividir en tres etapas : digestión, absorción y metabolismo.

La digestión de las proteínas se inicia en el estómago, - donde el alimento se mezcla con el jugo gástrico que contiene ácido clorhídrico, agua y enzimas proteolíticas. El contacto físico del bolo con la pared del estómago provoca la secreción del ácido a través de las células parietales y de pepsinógeno por las células principales, la estimulación de las células parietales es producida por la hormona gastrina. El pepsinógeno en pH ácido se hidroliza transformándose en pepsina, proteasa que rompe algunos enlaces peptídicos. Debido a que las pepsinas tienen un pH óptimo de 1.6 a 3.2, su acción termina cuando el contenido gástrico se mezcla con el jugo pancreático alcalino en el duodeno. El pH del contenido duodenal es cercano a 6.5 (Ganong, 1966) (Badui, 1981).

Hay dos clases de proteasas pancreáticas : las endopeptidasas y exopeptidasas. Las primeras (tripsina, quimotripsina y elastasa) atacan las ligaduras interiores de los péptidos - (CO-NH) de aminoácidos adyacentes y diferentes una de otra -- únicamente desde el punto de vista funcional, ya que tienen afinidad por determinados aminoácidos. Así, la tripsina hidroliza aquellos enlaces peptídicos en los que el grupo carboxilo está dado por un residuo de aminoácidos básicos como la arginina o lisina, mientras que la quimiotripsina ataca los enlaces en los que el carboxilo proviene de aminoácidos aromáticos como tirosina, triptofano o fenilalanina; la elastasa deriva aminoácidos no polares en posición C-terminal. En los tres casos, los productos de la reacción son varios péptidos-

de bajo peso molecular y algunos aminoácidos libres. Por su parte las exopeptidasas (que fundamentalmente son las carboxipeptidasas) actúan en la parte terminal de las proteínas. Las proteasas del páncreas son sintetizadas en las células de los acinos y secretadas como precursores inactivos (formas de zimógenos : tripsinógeno, quimiotripsinógeno, procarboxipeptidasas y proelastasa) a la luz del duodeno mediante la acción de diversas hormonas gastrointestinales, las cuales, a su vez, son liberadas de las células de la mucosa duodenoyeyunal por acción de diversos componentes de la dieta , ocurriendo así la transformación de la molécula proteica, mediante una escisión específica que convierte a los zimógenos en enzimas activas (Wolpert, s/f) (Badui, 1981). Algunos fragmentos no degradados (polipéptidos y dipéptidos) permanecen a la luz del intestino para ser digeridas posteriormente por enzimas secretadas por la mucosa del intestino delgado (oligopeptidasa, dipeptidasa y aminopeptidasa) (Fig.1) (Wolpert, s/f) (Kritchevsky y Alfin, 1980).

Una vez terminada la digestión, empieza la absorción de los aminoácidos, ésto se efectúa principalmente en la parte media del intestino delgado o yeyuno, aunque también existe cierta absorción en sus zonas más altas y bajas. Cerca del 15% de las proteínas ingeridas entran al colon y finalmente son digeridas por acción de las bacterias. Las proteínas plasmáticas entran al intestino delgado y son digeridas junto con las proteínas de las células descamadas y secreciones di

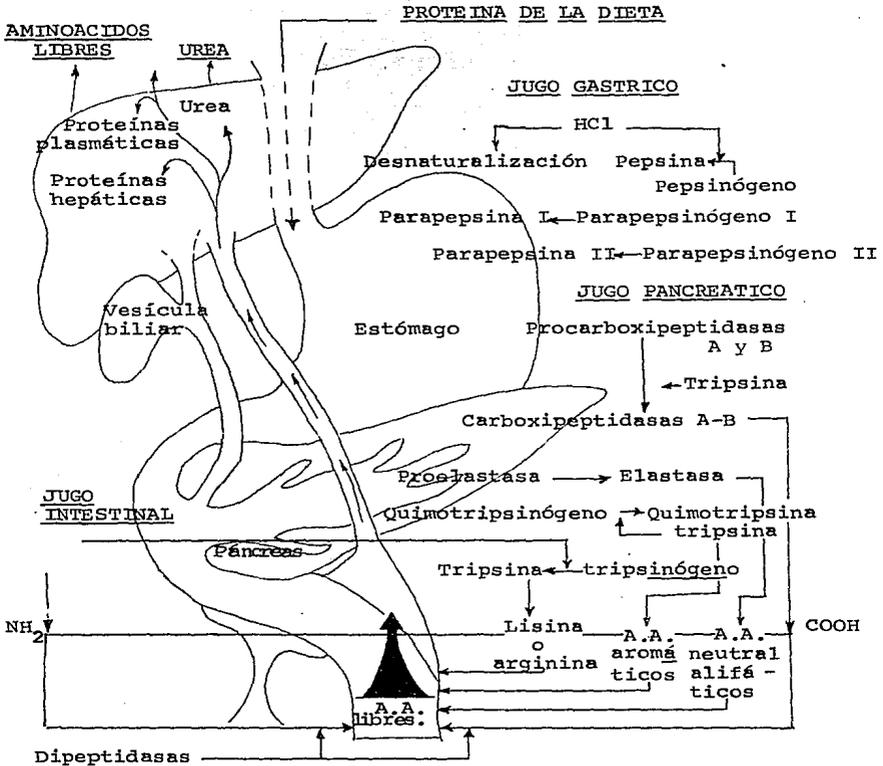


FIG. 1. Esquema de la Digestión y Absorción de Proteínas. (Tomado de Kritchevsky y Alfin, 1980).

gestivas -como las enzimas- que forman las proteínas endógenas. Los D-aminoácidos son, en apariencia, absorbidos únicamente por difusión pasiva, mientras que los L-aminoácidos son transportados activamente fuera de la luz intestinal (Wolpert, s/f) (Ganong, 1966).

Hay evidencia de que las células de la mucosa intestinal de los animales jóvenes absorben péptidos intactos por pinacitosis seguida de hidrólisis dentro de las células de absorción.

Los aminoácidos producto de la hidrólisis de las proteínas de la dieta son transportados por la circulación porta hasta -llegar al hígado, aquí algunos son almacenados y utilizados --cuando no se presentan en la dieta; otros aminoácidos pasan a la circulación sistémica (depósito metabólico) como proteínas plasmáticas (por ejemplo la albúmina), o bien como aminoácidos libres, de donde son tomados por las células individuales para cubrir sus necesidades metabólicas; en la célula hepática se producen cambios metabólicos para convertir algunos aminoácidos en otros compuestos nitrogenados (p.ej. urea y ácido úrico) y también se pueden generar ácidos grasos o glucosa según la -naturaleza del aminoácido; una vez que los aminoácidos realizan su función, son desaminados al igual que los aminoácidos -en exceso, y su nitrógeno es excretado en forma de urea.

Lo antes mencionado involucra que tanto la cantidad como -la calidad de la proteína (y sus aminoácidos constituyentes) -son de suma importancia para satisfacer los requerimientos nutricios del organismo. Sin embargo otros factores afectan la -

utilización de la proteína, a saber :

a) Dieta : proteína total, energía total alimentaria, la composición en aminoácidos (deficiencia o exceso), digestibilidad, fibra y otros constituyentes de la dieta.

b) Consumidor : edad, sexo, estado fisiológico (crecimiento, embarazo, lactancia), actividad, enfermedades, infecciones y estado anímico.

c) Externo : frecuencia alimentaria, social, económica, higiene y sanidad (Pellett, 1978) (Jansen, 1978).

Una proteína de buena calidad puede definirse como aquella que suministra la cantidad de aminoácidos requeridos para la síntesis de las proteínas propias del organismo, y cuya utilización es la más eficiente posible. Esto se logra a través de una buena relación y una alta disponibilidad biológica de los aminoácidos, lo que significa que sus constituyentes sean fácilmente metabolizados (Badui, 1981).

Cabe mencionar aquí, que la mayoría de los alimentos para consumo humano reciben de alguna manera un tratamiento térmico durante su preparación (entre otros, como congelamiento, esfuerzos mecánicos, etc.), lo que en general incrementan la palatabilidad, higiene, digestibilidad y por tanto la calidad de los alimentos. Aunque a veces se da una pérdida en cualquier nutrimento, es mejor cocinar los alimentos que ingerirlos crudos (Mottram, 1979).

La metodología para evaluar la calidad proteínica es útil para programas de selección de alimentos básicos, en investi-

gaciones agrícolas, y en actividades relacionadas con los -- efectos de conservación y procesamiento, mejoramiento de la - calidad proteínica, desarrollo de alimentos de alto valor nutritivo y entre otros más, para propósitos de control de calidad.

En general, la evaluación global de la calidad proteínica comienza con el análisis de nitrógeno y de aminoácidos, le sigue una serie de determinaciones químicas específicas y termina con las pruebas biológicas (Pellett, 1980); aunque los métodos químicos e "in vitro" aportan información de la calidad potencial de una proteína, es deseable analizarla en vivo; así el perfil de aminoácidos de una proteína alimentaria expresado en relación con un patrón es un buen indicador de la calidad potencial de dicho alimento, pero en algunos casos ésto - puede ser erróneo si los aminoácidos indispensables de la proteína sólo están disponibles biológicamente en forma parcial, la proporción de aminoácidos pueda influir en la utilización global de la proteína dietética, o la existencia de materia--les tóxicos en los alimentos, etc. (Bodwell, 1975) (Pellett, - 1980).

Los métodos biológicos para evaluar la calidad proteínica de los alimentos generalmente miden la capacidad de una pro--teína para constituir una mezcla de aminoácidos que promueva el crecimiento, mantenimiento y funcionamiento de los tejidos en un organismo vivo; por cuestiones éticas y prácticas la mayoría de los bioensayos se realizan en animales, tales como -

ratas, ratones, etc. y aunque resultan de valiosa ayuda para dar una apreciación cualitativa de las proteínas, existen limitaciones en el tipo de información que pueden derivarse de los procedimientos, algunas de ellas son : se obtiene un sólo índice de evaluación que se aplica para una variedad de - funciones de la proteína; en ocasiones se enmascara informa- ción acerca de los aminoácidos indispensables de la proteína que se hallan en forma limitada; un bioensayo en laboratorio se lleva a cabo bajo condiciones estandarizadas, y se ha es- tablecido que la utilización de la proteína varía con la can tidad de proteína y de la historia dietética previa; los re sultados generalmente se extrapolan de los animales a los hu manos; diferentes tipos de ensayos pueden proporcionar dife- rentes valores absolutos, por lo que, el significado de los- valores obtenidos en ensayos con animales experimentales con respecto a la nutrición humana debe interpretarse con cierta cautela (Pellett, 1978 y 80) (Bodwell, 1979) (Satterlee, 1979).

Existen diversos métodos de bioensayos para evaluar la - calidad proteínica de un alimento y para la selección de al- guno de ellos deben tomarse en cuenta las siguientes caracte- rísticas : validez, precisión, reproducibilidad, proporciona- lidad y costo (Pellett, 1978 y 80).

Las evaluaciones biológicas con animales de laboratorio- para conocer la calidad proteínica más comunes son :

1. Relación de Eficiencia Proteínica (REP). Es el método más simple para determinar la calidad proteínica, y consiste

en medir la tasa de crecimiento de animales jóvenes alimentados con la dieta sometida a prueba. Osborne, Mendel y Ferri - en 1919 (en Pellett, 1980) tradujeron este concepto en una ba se cuantitativa, relacionando la ganancia de peso con la cantidad de proteína consumida; el índice obtenido fue denominado relación o índice de Eficiencia Proteínica (REP). Este aná lisis se efectúa con ratas recién destetadas y alimentadas -- con una dieta de un contenido de proteína del 10% que se administra "ad libitum" por 28 días; el peso de las ratas se re-- gistra continuamente, así como la cantidad de alimento consumido. Las dietas deben ser isocalóricas y efectuarse paralelala mente a una dieta control constituida por caseína o proteína de huevo (Lachance et.al., 1971) (Jansen, 1978) (Pellett, 1980) (Bodwell, 1975) (Badui, 1981).

El mayor inconveniente de este método es que supone que - no hay proteínas para el mantenimiento del animal, y que el - aumento del peso es proporcional a la proteína consumida; ésto no siempre es correcto, ya que los nutrimentos que acompañan a la proteína influyen considerablemente en el incremento del peso corporal. Esto puede observarse en el caso de un lote de ratas que no tuviera un aumento en su peso, lo que indi caría que la REP es de cero, cosa que no necesariamente sería cierta, ya que la proteína tal vez fue utilizada para llenar los requerimientos de un buen mantenimiento de los órganos in ternos, previniendo la pérdida de peso y la muerte de los animales. Por otra parte los valores de la REP no son proporcio-

nales a la calidad de la proteína; es decir, una proteína -- con una REP de 2.0 no es doblemente mejor que una con una REP de 1.0 (Pellett, 1980) (Badui, 1981). Se sabe que el resultado es dependiente de la dosis, pero no se puede aplicar ninguna corrección porque es un método que utiliza una sola con centración y no se puede usar ninguna prueba interna para -- rectificar su validez. Los factores que afectan la ingestión total de alimento aumentan la variabilidad de los estimados -- de REP, reduciendo su capacidad para discriminar entre pro -- teínas. El método no siempre es reproducible en diferentes -- laboratorios , por lo que suele hacerse intentos por elimi -- nar esta variación asumiendo que el valor de REP para caseína (testigo interno) sea de 2.5 y proporcionalmente se calcu -- lan los demás valores de REP para las muestras problemas (Sa -- monds y Hegsted, en Pellett, 1980).

2. Utilización Neta de la Proteína (UNP). Introducida -- por Shukers y McCollum en 1929 (Pellett, 1980), se le consi -- dera como un bioensayo más preciso y difiere del anterior en que aquél se estima a partir de los cambios en peso corporal y este último (UNP) mide los cambios en nitrógeno corporal ; es decir consiste en medir el nitrógeno que se ha depositado en el cuerpo de las ratas después de haber sido alimentadas -- con una dieta con 10% de proteína durante un período de 10 a 28 días (varía según el autor). La energía de la dieta debe -- ser suficiente para que el animal no utilice a la proteína -- como fuente calórica.

Dentro del período experimental de estos bioensayos se -- puede determinar la Digestibilidad Aparente (DA), que se diferencia de la no aparente ("verdadera"), en que esta última -- considera el nitrógeno endógeno (células mucosas del tracto -- gastrointestinal y enzimas digestivas), mientras que la pri-- mera solamente relaciona el nitrógeno fecal total entre el ninitrógeno total dietético ingerido (Bodwell, 1975) (Pellett, 1980).

4. CARACTERISTICAS GENERALES DE TRES INSECTOS COMESTIBLES :
Apis mellifera L., Liometopum apiculatum M. y Sphenarium spp.

Las especies Apis mellifera L. (abejas mieleras) y Liometopum apiculatum M. ("escamoles"-hormigas) pertenecen respectivamente a las familias Apidae y Formicidae del orden Hymenoptera; este orden es uno de los más numerosos y tiene algunas características generales que son : una organización social muy compleja, una metamorfosis completa, partes bucales que varían del tipo masticador a una combinación de estructuras masticadoras y lamedoras, cuando poseen alas se presentan cuatro, y como estrategias reproductivas existen la poliembriónia y la partenogénesis.

La especie Apis mellifera L. fué introducida del viejo mundo en los primeros tiempos de la Colonia. Esta especie se organiza en colmenas, agrupando reinas, zánganos y obreras.- Hay una reina en cada colmena, su longevidad es de 3 a 4 años, su tamaño y peso son mayores en comparación con las obreras, la reproducción es su principal función biológica y aova en promedio 2000 huevos fecundados al día, estos huevos dan origen a obreras, pero cuando lo exigen las circunstancias y en ciertas condiciones especiales (modificación de la alimentación y celdillas especiales) esos huevos pueden dar origen a una nueva reina; los huevos que no se fecundaron producen zánganos exclusivamente (Metcalf, 1976). Existen de mil a 2-mil machos (zánganos) en cada colmena, viven aproximadamente

tres meses, su longitud es menor comparada con la de la reina, pero son más robustos; su principal función biológica es la fecundación de la reina; son incapaces de alimentarse por si mismos, se nutren de la miel preparada por las obreras durante la primavera y el verano, pero en el otoño son expulsados de la colmena a expensas del frío y falta de alimento.

En cada colmena existen de 20 mil a 90 mil obreras (hembras estériles), su vida promedio es de 30 a 45 días, sus funciones más importantes son : coleccionar alimento, el cual consta de néctar floral, polen y agua; construir el nido; alimentar a las larvas; cuidar a la reina; limpiar la colmena; generar la temperatura adecuada para la colmena; resguardar a la colmena contra depredadores, usando como arma defensiva la lanceta (aguijón), que es una modificación del ovipositor (Donadieu, 1979).

Además de los productos alimenticios ya conocidos de las abejas, se propone a las larvas y pupas como fuente importante de proteínas de buena calidad (Delage-Darchen, 1983).

En las especies de la familia Formicidae, las larvas son muy indefensas, ápodas y criaturas casi sin cabeza, el extremo anterior está típicamente doblado como gancho y las pupas a veces sin pupario (Metcalf, 1976); cuando son adultas, su cuerpo tiene tres regiones bien definidas que son cabeza, tórax y abdomen, el tórax usualmente se distingue por ser la región más delgada; las antenas están fuertemente acodadas con un primer segmento largo; sus partes bucales son masticas

doras; los machos y algunas hembras tienen alas, cuya función principal es dispersar las nuevas colonias; las hormigas poseen numerosas glándulas cutáneas, que secretan feromonas de gran importancia para el mantenimiento de las relaciones sociales a través de la comunicación química. El alimento de las hormigas, como sus materiales para construir nidos son extremadamente diversos; las distintas especies toman el néctar de las plantas, secreciones de los cóccidos, áfidos y otros homópteros, semillas, frutos, insectos y las secreciones de sus propias larvas. Los jóvenes se alimentan, ya sea de pedacitos de semillas, insectos u hongos que las obreras cultivan, o alimento líquido o sólido regurgitados por las obreras. El apareo generalmente se efectúa en el vuelo, el macho muere después del apareo, la hembra vuela o camina a algún sitio para anidar, desprende sus alas, camina a una cavidad natural o construye una cueva pequeña en el suelo, y se sella en el interior por semanas o meses, hasta que los huevecillos han desarrollado e incubado y las larvas han sido nutridas hasta el estado adulto por una secreción salival de las bocas de las obreras. El suministro de esperma recibido por la reina durante el vuelo inicial, es suficiente a través de toda su vida, la cual se puede extender de diez a quince años. Los nidos en su mayoría son construídos en el suelo, especialmente debajo de piedras, troncos, etc. Los huevecillos, larvas y pupas generalmente están apiladas juntas, en cámaras especialmente intercomunicadas, galerías bajo tierra, de estructura tra-

becular a manera de una esponja de grandes mallas. El contacto entre obreras y larvas es de significativa importancia y es intensificado por la alimentación mutua (trofalaxis), las obreras traen alimento del tipo variado para las larvas y éstas responden con secreciones dulces, algunas veces provenientes de glándulas especiales en el tórax. La casta obrera apta frecuentemente son polimórficas, esto es que hay diferentes tamaños o formas en la misma especie para realizar una gran variedad de funciones, tales como pelear, construir nidos, transportar a los jóvenes, limpieza, deshierbe de los cultivos de hongos, etc.

La especie Liometopum apiculatum M. en los estados inmaduros: larvas y pupas, representan al llamado "escamol" en México, que la gente del campo obtiene durante los meses de marzo y abril; también se les nombra "guijes" en las zonas otomíes y chiquereis en el Estado de Puebla. La gente que saca el escamol conoce que un nido ya lo tiene, observando si las obreras han disminuído el tamaño de su abdomen (en los meses de marzo-abril); de mayo a febrero su abdomen se ensancha, posiblemente este ensanchamiento se deba al almacenamiento de alimento en el "buche" de las obreras, el mismo que quizás regurgiten en mayor cantidad en algunas larvas durante febrero y marzo produciendo escamol. Si el nido es explotado al principio de temporada, las obreras empezarán nuevamente a producir escamol, retardándose la aparición de los reproductores. Es así como un nido puede explotarse varias veces por temporada.

produciéndose escamol hasta mayo. La técnica de los "escamoleros" consiste en seguir un camino hasta la parte donde son -- más abundantes las hormigas, el nido deberá estar en el cruce de tres, cuatro o cinco caminos. En el sitio deberás haber -- tierra "nueva" que van sacando las hormigas para formar el nido, muchas veces se encuentran pedazos del mismo nido que llegan a arrastrar al exterior. Se prefiere sacar los nidos de -- escamol en las horas de menor temperatura del día, pues cuando hace más calor, más agresivas están las hormigas, además -- de que los caminos se siguen fácilmente porque como se mues--tra en un etograma realizado por Cuadriello (1980) se observa que las hormigas "prefieren" moverse en las horas de humedad y sombra, aumentando su actividad en la tarde o noche.

Cuando se extrae el nido con ayuda de una barreta, se sacude dentro de una cubeta o malla de yute para limpiarlo separando después el escamol de los pedazos de nido, tierra y de las mismas hormigas adultas. Casi nunca se destapa todo el nido, ni se saca todo el escamol, ya que la gente vuelve a ta--parlo para que produzca nuevamente escamol ese año o el siguiente; es decir, se trata de perturbar lo menos posible el nido--para que las hormigas no lo cambien de lugar. Antes de volverlo a tapar se rellena de pencas secas de nopal que sirven como sustrato o pasto seco para que sobre él las hormigas trabajen formando un nuevo nido. Una característica importante de los "escamoleros" es que su residencia está en o cerca de zonas montañosas, forestales o cerriles, improductivas agrícola

mente, lo que representa un ingreso relativamente fuerte -- cuando comercializan el escamol (Cuadriello, 1980).

Todos los Orthoptera tienen partes bucales masticadoras bien desarrolladas, su metamorfosis es gradual, las ninfas generalmente pasan a través de cinco estadios. Las alas, cuando existen son cuatro, el par anterior angosto y endurecido, las posteriores son delgadas y cuando quedan en reposo se doblan como un abanico y son colocadas hacia atrás sobre el abdomen, de tal manera que son cubiertas por las alas delanteras (Metcalf, y Flint, 1976).

Las especies que incluyen el género Sphenarium son muy semejantes y comúnmente los trabajos acerca de este acrídido lo mencionan sin determinación específica. El género es casi exclusivo de México, estando presente en la Meseta Central, habiéndose reportado hacia el Estado de Jalisco, también se le ha localizado en Michoacán. Además tiene una distribución más amplia hacia el sur de México y posiblemente se prolonga hasta América Central. En la biología Centrali-Americana se dice que el género Sphenarium comprende cerca de una docena de especies muy relacionadas en formas. En efecto el parecido entre unas y otras es muy grande y la variación en el tamaño, coloración y estructuras de individuos de una misma especie es considerable (Márquez C., 1962). Este género pertenece a la familia Acrididae del orden Orthoptera. Dicha familia incluye a los saltamontes de antenas cortas y la mayoría de ellos se hallan comúnmente en las praderas y a lo largo -

de las orillas de las carreteras desde mediados a fines del verano. Las antenas son usualmente mucho más cortas que el cuerpo, los órganos auditivos están localizados sobre los costados del primer segmento abdominal, el ovipositor es corto.- La mayoría son verdes o parduzcos y algunos tienen colores brillantes en las alas posteriores. Son fitófagos y son frecuentemente muy destructivos de la vegetación. La mayoría de las especies pasan el invierno en estado de huevo, algunas emergen como ninfas y pocas como adultos. La mayoría de los machos de este grupo "cantan", los sonidos son provocados por estridulación, es decir por frotamiento de dos regiones corporales, tales como la superficie interior del fémur posterior contra el borde inferior del ala anterior, o por el chasquido de las alas posteriores en el vuelo (Borrór y Delong, 1976).

La gente que recolecta los chapulines y los destina para comerlos, recomienda dejarlos durante un día vivos para que defequen y no se amarguen, una vez que defecaron son sacrificados en agua caliente y luego cocinados con ajo, limón y fritos en aceite.

A continuación se presentan tres cuadros (ver Cuadros 5,6 y 7), en los que se incluyen algunos datos referentes a : como y en que localidades de la República Mexicana se comen los insectos Apis mellifera L., Liometopum apiculatum M. y Sphenarium spp., al igual que sus análisis bromatológicos y contenidos de aminoácidos de las proteínas. Cabe mencionar aquí, que el valor de la digestibilidad "in vitro" se ha registrado só-

lo para Liometopum apiculatum M., y que es de 93.92% (Conconi, Pino y González, 1981).

CUADRO 5.

Datos generales acerca de tres insectos comestibles de México.

ORDEN	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE VULGAR	ESTADO DE CONSUMO	LUGAR DONDE SE CONSUMEN
Hymenoptera	Formicidae	<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u> M.	escamoles	huevo larva pupa	Tamps., Mich., D.F., Edo. de México, Hgo., - Oax., Pue., y - Tlaxcala.
Hymenoptera	Apidae	<u>Apis</u> <u>mellifera</u> L.	abejas mieleras	huevo larva pupa	Toda la Repú-- blica Mexicana
Orthoptera	Acrididae	<u>Sphenarium</u> <u>purpurascens</u> y <u>S. borretti</u>	chapulines	ninfas y adultos	Oaxaca, Edo.- de México y - Puebla.

Tomado de Conconi, 1982.

CUADRO 6..

Análisis bromatológico de tres insectos comestibles de México
(g/100 g de muestra)

	<u>Liometopum</u> * <u>apiculatum</u> M.	<u>Apis</u> ** <u>mellifera</u> L.	<u>Sphenarium</u> * <u>purpurascens</u>	
	H, L, P, A	L	P	A
BASE SECA				
Materia seca	100.00	100.00	100.00	100.00
Proteína cruda	37.33	41.68	49.30	58.33
Extracto etéreo	33.56	18.82	20.31	7.47
Cenizas	5.14	3.35	3.56	16.49
Fibra cruda	2.40	1.33	2.67	8.68
Extracto libre de nitrógeno	21.57	34.80	24.13	9.03
BASE HUMEDA				
Materia seca	29.20	23.27	20.18	57.60
Humedad	70.80	76.73	79.82	42.40
Proteína cruda	10.90	9.70	9.95	33.60
Extracto etéreo	9.80	4.38	4.10	4.30
Cenizas	1.50	0.78	0.72	9.50
Fibra cruda	0.70	0.31	0.54	5.00
Extracto libre de nitrógeno	6.30	8.10	4.87	5.20

H = huevo ; L = larva ; P = pupa ; A = adulto

* Tomado de Conconi, Bourges y Pino, 1982.

** Tomado de Pino, M., 1983. Comunicación personal.

CUADRO 7.

Contenido de aminoácidos de la proteína de dos insectos
comestibles de México
(mg/100 mg N)

	FAO/OMS 1973	<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u> M.	<u>Sphenarium</u> <u>purpurascens</u>
A.A. Ind.			
Isoleucina	4.0	4.9	4.2
Leucina	7.0	7.6	8.9
Lisina	5.5	5.8	5.7
Metionina + Cisteína	3.5	3.2 1.4	2.5 1.8
Total de A.A. sulfurados		4.6	4.3
Fenilalanina + Tirosina	6.0	10.7 6.8	10.3 6.3
Total de A.A. aromáticos		17.5	16.6
Treonina	4.0	4.2	3.8
Triptofano	1.0	0.8	0.65
Valina	5.0	6.0	5.7
Total de A.A. Ind.	36.0	51.4	49.85
A.A. Disp.			
Histidina	-	3.9	2.2
Ac. aspártico	-	8.3	8.7
Serina	-	4.8	4.8
Ac. glutámico	-	15.5	10.8
Prolina	-	6.2	7.2
Glicina	-	6.6	7.8
Alanina	-	7.1	10.4
Arginina	-	5.0	6.0
Total de A.A. Disp.	-	56.4	57.9

A.A. = aminoácidos ; Ind. = indispensables
Disp. = dispensables

Tomado de Conconi, Pino y Bourges, 1982.

III. O B J E T I V O S

OBJETIVO GENERAL :

Evaluar por tres métodos biológicos : REP, UNP y DA, la calidad de la proteína de tres insectos comestibles de México: Liometopum apiculatum M. (Hymenoptera-Formicidae), Apis mellifera L. (Hymenoptera-Apidae) y Sphenarium spp. (Orthoptera-Acrididae), seleccionados debido a su abundancia, estacionalidad, grado de consumo y contenido de proteína.

OBJETIVOS ESPECIFICOS :

1. Adquirir, ya sea por compra o colecta el material entomológico necesario para los bioensayos, en las localidades y temporadas adecuadas.

2. Preparación y conservación del material entomológico para análisis posteriores.

3. Efectuar un análisis bromatológico para determinar : proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno para cada insecto comestible.

4. Determinar el contenido de aminoácidos por métodos : - cromatográfico y colorimétrico para cada insecto comestible.

5. Desarrollar con ratas raza Wistar, los siguientes bio-

ensayos :

- a. Relación de Eficiencia Proteínica (REP).
- b. Utilización Neta de la Proteína (UNP).
- c. Digestibilidad Aparente (DA).

Usando caseína en la dieta testigo.

6. Realizar comparaciones entre los lotes experimentales:
 - a. Entre los tres insectos comestibles.
 - b. Entre cada insecto comestible y su respectivo testigo.

IV. MATERIAL Y METODOS

Las especies estudiadas fueron : estados inmaduros (larvas y pupas) de Apis mellifera L., colectadas en La Piedad, Michoacán durante los meses de marzo a junio de 1984. Estados inmaduros (larvas y pupas) de Liometopum apiculatum M. de Apam, Estado de Hidalgo, colectadas en abril de 1984; y una mezcla constituida en un 77% de adultos de Sphenarium purpurascens Ch. y un 23% de ninfas y adultos de Sphenarium borretti B. (= Sphenarium rugosuum B.) colectadas en San Vicente Chiocoapan, Estado de México en septiembre de 1984.

La determinación de las especies se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología del Instituto de Biología UNAM.

Los insectos se asaron en comal, ya que la mayoría de la gente acostumbra comerlos de esta forma; no se añadió ningún condimento.

Los análisis químicos y bioensayos se realizaron en los Laboratorios del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán en México.

1. ANALISIS BROMATOLOGICO.

El material entomológico se secó completamente en estufa a 50°C, se molió y homogeneizó, procediéndose a determinar los contenidos de : cenizas por calcinación, extracto etéreo-

por reflujo con eter etílico en aparato Goldfish, proteína --
cruda por el método Macrokjeldahl y fibra cruda por el método
recomendado por la A.O.A.C. (1975) y modificaciones reporta--
das en el Manual de técnicas de laboratorio de análisis de --
alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición (INNSZ, 1984);
el extracto libre de nitrógeno se calculó por diferencia (Con--
sultar Apéndice 1).

2. ANALISIS DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS.

El contenido de aminoácidos se determinó por cromatogra--
fía de intercambio iónico en las columnas de un autoanaliza--
dor de aminoácidos Beckman modelo 116. Se determinaron quince
aminoácidos después de someter una muestra del material ento--
mológico desengrasado a hidrólisis con HCl 6N a 120°C durante
24 horas. Otra muestra, antes de ser sometida a las condicio--
nes anteriores, fue oxidada con ácido per fórmico para medir -
la cisteína y metionina como ácido cistéico y sulfona de me--
tionina respectivamente (INNSZ, 1984). El triptofano se cuan--
tificó por método colorimétrico (INNSZ, 1984) (Consultar Apén--
dice 2).

3. BIOENSAYOS.

Para evaluar biológicamente la calidad proteínica de los--
tres insectos ya mencionados, se realizaron los siguientes --
bioensayos :

a) La Relación de Eficiencia Proteínica (REP), que indica

la ganancia de peso corporal por gramo de proteína cruda ingerida.

$$\text{REP} = \frac{\text{Peso corporal final (g)} - \text{Peso corporal inicial (g)}}{\text{Proteína cruda ingerida (g)}}$$

b) Utilización Neta de la Proteína (UNP), que muestra la proporción de nitrógeno que se retuvo corporalmente respecto al ingerido.

$$\text{UNP} = \frac{\text{NTC}_f \text{ (g)} - \text{NTC}_i \text{ (g)}}{\text{NTI (g)}} \times 100$$

En donde :

NTC_f = Nitrógeno total corporal final

NTC_i = Nitrógeno total corporal inicial

NTI = Nitrógeno total ingerido

c) Digestibilidad Aparente (DA). Indica la proporción de proteína cruda que se absorbió respecto a la que se ingirió, sin considerar pérdidas por metabolismo endógeno.

$$\text{DA} = \frac{\text{PcI (g)} - \text{PcF (g)}}{\text{PcI (g)}} \times 100$$

En donde :

PcI = Proteína cruda ingerida

PcF = Proteína cruda fecal

El desarrollo experimental de los bioensayos fue el siguiente :

Con los resultados obtenidos para proteína cruda (P.c.), extracto etéreo (E.e.) y fibra cruda (F.c.) correspondientes

a cada uno de los insectos comestibles y de la caseína pura- (Industrias Niza, 100%) que se usó como proteína de referen- cia (testigo), se elaboraron cuatro dietas con los ingredien- tes en las proporciones que aparecen en el Cuadro 8.

CUADRO 8.
Composición de la dieta.

Componentes	Proporción (g/100g)
Muestra	A
Aceite de maíz	20-(A% E .e.)/100
Sales minerales*	5
Mezcla de vitaminas**	1
Celulosa	4-(A% F .c.)/100
Glucosa	Completar a 100 añadiendo en igual proporción para - cada azúcar.
Sacarosa	
Almidón	
A = 10.0 x 100 / % P.c. (N x 6.25)	

* Mezcla de sales minerales : Molibdato de amonio, 0.025 g/Kg; Carbonato de calcio, 292.9161 g/Kg; Fosfato de calcio dibási- co, 4.3002 g/Kg; Sulfato cúprico, 1.5601 g/Kg; Citrato férrico, 6.2303 g/Kg; Sulfato de magnesio, 99.8055 g/Kg; Sulfato - de manganeso, 1.2101 g/Kg; yoduro de potasio, 0.005 g/Kg; Fos- fato de potasio monobásico, 343.1189 g/Kg; Cloruro de sodio -- 250.6138 g/Kg; Seleniato de sodio, 0.015 g/Kg; Cloruro de -- zinc, 0.20 g/Kg.

** Mezcla de vitaminas : ácido p-aminobenzoico, 11.0132 g/Kg; Ac. ascórbico, 101.6604 g/Kg; Biotina, 0.0441 g/Kg; Vitamina- B₁₂, 2.9736 g/Kg; Pantotenato de Calcio, 6.6079 g/Kg; Colina- 349.6916 g/Kg; Ac. fólico, 0.1982 g/Kg; Inositol, 11.132 g/Kg; Menadiona, 4.559 g/Kg; Niacina, 9.9119 g/Kg; Pyridoxina, -- 2.2056 g/Kg; Rivo flavina, 2.2026 g/Kg; Tiamina, 2.2026 g/Kg; - Vitamina A, 3.9648 g/Kg; Vitamina D₂, 0.4405 g/Kg; Vitamina E, 24.22 g/Kg.

El contenido de proteína cruda para cada dieta se determinó por el método Macrokjeldahl.

Las ratas utilizadas para los bioensayos reunieron las siguientes características : de raza Wistar, machos de 21 a 22-días de nacidos (recién destetados), con pesos de 24 a 34 gramos.

Las ratas se pesaron y se les colocó en jaulas individuales, sometiéndolas a un ayuno de 24 horas, suministrándoles solamente agua. Transcurrido ese tiempo se pesaron nuevamente, considerando este peso como el inicial. Las ratas se distribuyeron en lotes de 6 a 10 animales por cada dieta y se les proporcionó alimento y agua "ad libitum"; cada tercer día se registró el peso del alimento ingerido y semanalmente el peso corporal de cada rata. El tiempo de duración de los bioensayos fué de 21 a 28 días.

La temperatura del ambiente en el cuarto del bioterio fue de 22-24°C, con una humedad relativa de 50 a 60%.

Al inicio del bioensayo, cuando se formaron los lotes experimentales, se sacrificaron tres ratas con cloroformo y se les realizó una incisión longitudinal-ventral, se les secó en estufa a una temperatura de 50 a 70°C hasta peso constante, - el peso final seco se registró, las ratas se molieron y se tomaron muestras de cada una para determinar su contenido de nitrógeno total por el método Macrokjeldahl. El promedio del contenido de nitrógeno total corporal obtenido de las tres ratas se consideró como el valor inicial (NTC_1).

Transcurrido el tiempo de duración del bioensayo, las ratas se sacrificaron y procesaron de igual forma que las anteriores, obteniéndose el valor de nitrógeno total corporal final (NTC_f).

La técnica para determinar la digestibilidad aparente consistió en : recolectar la materia fecal de cada rata del 8o.- al 13o. día del bioensayo, se usó el marcador fecal rojo carmín para indicar el comienzo y el final de la recolección, y se registró la cantidad de alimento ingerido en el mismo período. La materia fecal se secó, pesó y molió; se le determinó el contenido de proteína cruda por el método Microkjeldahl (Apéndice 3). El contenido de proteína cruda del alimento ingerido también se obtuvo (Boðwell, 1975) (Pellett, 1980) (INNSZ, 1984).

Los datos resultantes para cada uno de los bioensayos -- (REP, UNP y DA) fueron analizados estadísticamente con el Análisis de Varianza (ANDEVA) y la prueba t (Bruning y Kintz, -- 1977) (Wayne, 1977), y las diferencias en el nivel de confianza 95% fueron consideradas como significativas.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

1. ANALISIS BROMATOLOGICO.

Los datos obtenidos de este análisis para los tres insectos estudiados se muestran en el Cuadro 9, en el que se presentan los contenidos tanto en "base húmeda" (ésta considera la humedad de los insectos asados y no la original), como en base seca; en esta última, puede apreciarse que Sphenarium spp. son los que contienen más proteína cruda (71.43%) seguidos por A. mellifera (50.42%) y L. apiculatum (39.67%); en ese mismo orden se da para los contenidos de cenizas y "fibra cruda". Cabe mencionar aquí, que esta última determinación se refiere en general a muestras de origen vegetal, pues incluye polisacáridos estructurales como celulosa, lignina y hemicelulosa, pero en este caso, los insectos también tienen polisacáridos estructurales en su exoesqueleto, como lo es la quitina entre otras sustancias que pudieran ser de difícil digestión (Lenhinger, 1975) (Metcalf y Flint, 1976) (Sosa, 1981) (Mazur y Harrow, 1967); y para los contenidos de extracto etéreo se dan en orden inverso a los anteriores, es decir, mayor para L. apiculatum seguido por A. mellifera y menor para Sphenarium spp.; y finalmente en cuanto al contenido de extracto libre de nitrógeno, es mayor para A. mellifera, después L. apiculatum y menor para Sphenarium spp.

CUADRO 9.

Análisis bromatológico de tres insectos comestibles
(en g/100 g de muestra)

Insecto	Humedad	Proteína cruda (Nx6.25)	Extracto etéreo	Fibra cruda	Cenizas	Extracto libre de Nitrógeno
BASE "HUMEDA"						
<u>L. apiculatum</u> (larvas y pupas)	6.47	37.10	34.48	1.68	2.28	17.99
<u>A. mellifera</u> (larvas y pupas)	7.26	46.76	19.10	3.27	3.09	20.52
<u>Sphenarium</u> spp. (ninfas y adultos)	71.43	20.41	2.62	2.60	1.16	1.78
BASE SECA						
<u>L. apiculatum</u> (larvas y pupas)	0.00	39.67	36.87	1.80	2.44	19.22
<u>A. mellifera</u> (larvas y pupas)	0.00	50.42	20.59	3.53	3.33	22.13
<u>Sphenarium</u> spp. (ninfas y adultos)	0.00	71.43	9.18	9.10	4.06	6.23

2. ANALISIS DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS.

En el Cuadro 10 aparecen los contenidos de aminoácidos in dispensables de los tres insectos comestibles y del patrón de referencia FAO/OMS, 1973; que al compararse puede apreciarse que el aminoácido limitante común para las proteínas de los tres insectos es el triptofano, siendo de 0.75 para A. mellifera, 0.54 de L. apiculatum y de 0.37 mg/16mg N para Sphenarium spp. contra 1.0 mg/16mg N de la proteína de referencia; este aminoácido es indispensable tanto para la rata como para el humano, sirve como precursor de varios compuestos de interés biológico, por ejemplo la serotonina (5-hidroxitriptamina) que es un transmisor sináptico (agente neurohumoral), un vaso constrictor poderoso, estimulador del músculo liso en la actividad gastrointestinal y también en la función del sistema nervioso (Mazur y Harrow, 1967). Se ha reportado que cuando se retira el triptofano de la dieta, la rata presenta cataratas, una vascularización corneal y alopecia (Aguirre, 1979).

Respecto al total del contenido de aminoácidos indispensables se presentan en el siguiente orden ascendente en comparación al patrón de referencia (36 mg/16mg N) : Sphenarium spp. (35.5 mg/16mg N), A. mellifera (35.79 mg/16mg N) y L. apiculatum (36.52 mg/16mg N).

El análisis de contenido de aminoácidos indispensables da un indicio de la calidad de la proteína de los insectos comestibles; el triptofano es el aminoácido limitante común, y al igual que para los aminoácidos restantes se conoce la propor-

CUADRO 10.

Contenido de aminoácidos indispensables de las proteínas de tres insectos comestibles y de la proteína de referencia de la FAO/OMS 1973 (en mg/16mg N)

Aminoácidos Indispensables	FAO/OMS 1973	<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u>	<u>Apis</u> <u>mellifera</u>	<u>Sphenarium</u> spp.
Isoleucina	4.0	4.24	4.11	3.70
Leucina	7.0	6.80	6.60	6.61
Lisina	5.5	4.80	6.02	4.86
Metionina +		1.85	1.96	1.36
Cisteína	3.5	0.74	0.95	0.91
Fenilalanina +		3.24	3.04	2.70
Tirosina	6.0	5.65	4.08	5.78
Treonina	4.0	3.54	3.42	3.31
Triptofano	1.0	0.54	0.75	0.37
Valina	5.0	5.12	4.86	5.90
Total	36.0	36.52	35.79	35.50

ción en la que están presentes en la proteína, pero se desconoce la proporción de la proteína total que es disponible -- biológicamente.

3. BIOENSAYOS.

El número inicial de ratas para cada lote experimental -- fue de :

a) <u>L. apiculatum</u>	7 ratas
Testigo (T-1)	7 ratas
b) <u>A. mellifera</u>	10 ratas
Testigo (T-2)	8 ratas
c) <u>Sphenarium</u> spp.	10 ratas
Testigo (T-3)	10 ratas

Algunas rats murieron durante los tres primeros días del bioensayo : una para el lote T-1, dos para T-2 y una para -- T-3. Otra rata perteneciente al lote de Sphenarium spp. murió al décimo día y una más de T-3 murió al décimo octavo -- día. La causa exacta que provocó la muerte de dichas ratas -- se desconoce, pero se cree que las que murieron durante los tres primeros días, fue por no haber soportado el ayuno y -- las restantes posiblemente por oclusión intestinal.

La duración para los bioensayos fue el siguiente :

a) 21 días para REP y UNP de L. apiculatum y su respectivo testigo.

b) 28 días para REP y UNP de A. mellifera y Sphenarium --

spp. con sus respectivos testigos.

c) 5 días para DA de los tres insectos comestibles y sus testigos.

3.1 Relación de Eficiencia Proteínica (REP). El cuadro 11 reúne los datos finales de las REP's para cada rata participante en los lotes experimentales, las medias (\bar{x}) con sus desviaciones estándar (DE) y número de ratas (n) para cada lote; además se incluyen las proporciones de proteína en las dietas empleadas durante el desarrollo de los bioensayos.

Al comparar estadísticamente las REP's finales obtenidas para cada lote de ratas alimentadas con las dietas de los tres insectos comestibles y sus testigos respectivos, se detectó una diferencia significativa, misma que se encontró durante cada semana (Fig. 2).

También al realizar la comparación estadística de las REP's entre los lotes de ratas alimentadas con las dietas de los tres insectos (sin involucrar testigos) se detectaron diferencias significativas, excepto entre L. apiculatum de A. mellifera, L. apiculatum de Sphenarium spp. durante la primera semana y L. apiculatum de A. mellifera durante la segunda semana. Esto debe considerarse con cierta cautela, ya que los bioensayos se desarrollaron en diferentes épocas del año, por ello cada lote de ratas alimentadas con dietas de insectos tuvieron un lote testigo de caseína.

Sin embargo, los resultados se compararon de otra forma -

CUADRO 11.

Relación de eficiencia de la proteína (REP)
de tres insectos comestibles

Caseína ^a (T-1)	Fuente de la proteína de la dieta					<u>Sphenarium</u> spp. ^f
	<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u> ^b	Caseína ^c (T-2)	<u>Apis</u> <u>mellifera</u> ^d	Caseína ^e (T-3)		
3.06	1.34	3.48	1.79	2.86	1.30	
3.05	1.90	3.27	2.19	2.44	1.37	
3.32	1.73	3.45	1.94	2.83	1.65	
3.14	1.76	3.42	2.34	2.45	0.74	
3.41	1.90	3.15	2.17	2.91	1.12	
3.53	2.15	3.20	2.65	2.24	0.70	
	1.13		2.19	2.50	1.14	
			2.12	2.40	1.18	
			1.99		0.82	
			1.95			
X	3.25	3.33	2.13	2.58	1.11	
DE	0.20	0.14	0.24	0.25	0.31	
n	6	6	10	8	9	

Proporción de proteína de la dieta :

a = 10.62%

c = 10.62%

e = 9.94%

b = 10.21%

d = 10.37%

f = 9.98%

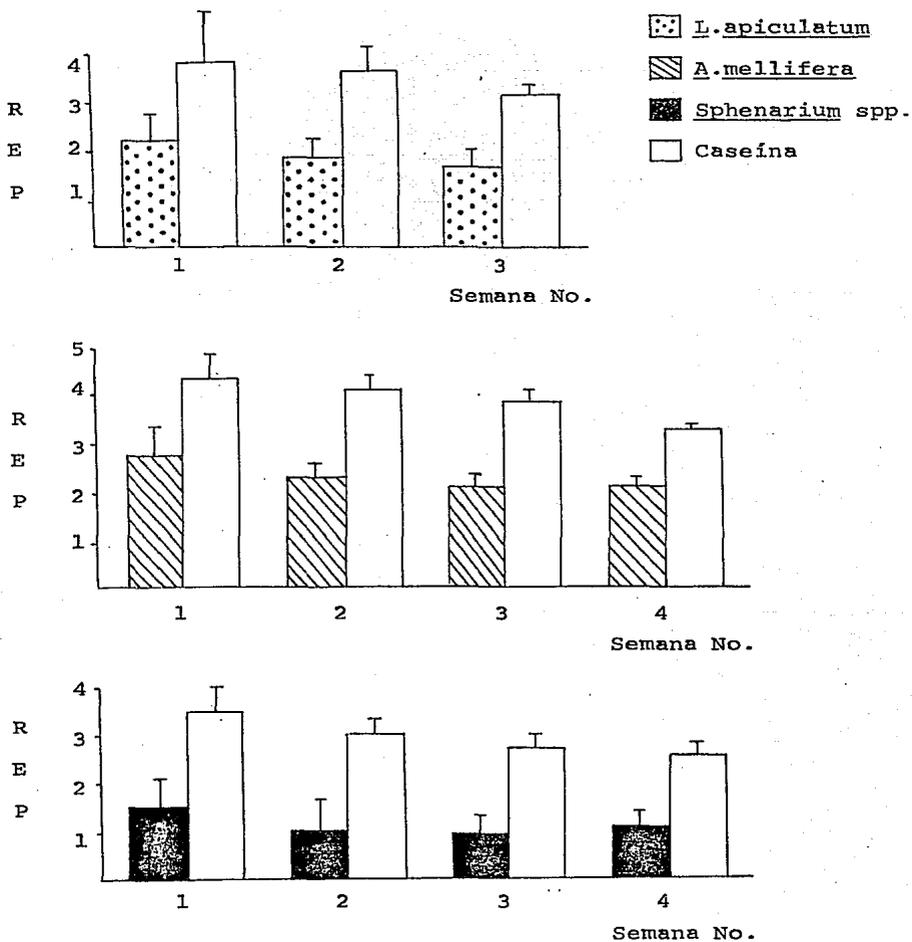


FIG. 2. Valores de REP para cada insecto comestible y su testigo en el transcurso de las semanas.

que a continuación se menciona : a los resultados de REP para los testigos se les asignó el valor porcentual de 100, mientras que a los lotes problema se les valoró proporcionalmente respecto a cada uno de los testigos correspondientes; ésto es, si para L. apiculatum se obtuvo hasta las tres semanas un REP de 1.70 ± 0.35 (lo que quiere decir que en promedio cada rata aumentó 1.7 gramos en peso corporal por cada gramo de proteína ingerida) y para su testigo de 3.25 ± 0.20 , significa que la REP para el lote alimentado con este insecto representa el 52.31% respecto a su testigo.

En la Fig. 3 se resume la comparación porcentual de las REP's para cada uno de los lotes de ratas alimentadas con insectos respecto a sus testigos durante el transcurso de las semanas. En esta figura se puede apreciar que el orden descendente de las REP's de los insectos comestibles respecto a caseína es : A. mellifera, L. apiculatum y Sphenarium spp.; este orden se presenta igual al transcurrir las semanas.

3.2 Utilización Neta de la Proteína (UNP). Los resultados obtenidos para este bioensayo aparecen en el Cuadro 12, en el que se presentan los valores de UNP para cada rata, las medias (\bar{x}), desviaciones estándar (DE) y número de ratas (n) para cada lote de ratas alimentadas con dietas de proteína de origen entomológico y de caseína (testigo). Los promedios finales de UNP se esquematizaron en la Fig. 4, en la que se aprecian fácilmente las diferencias entre las ratas alimentadas

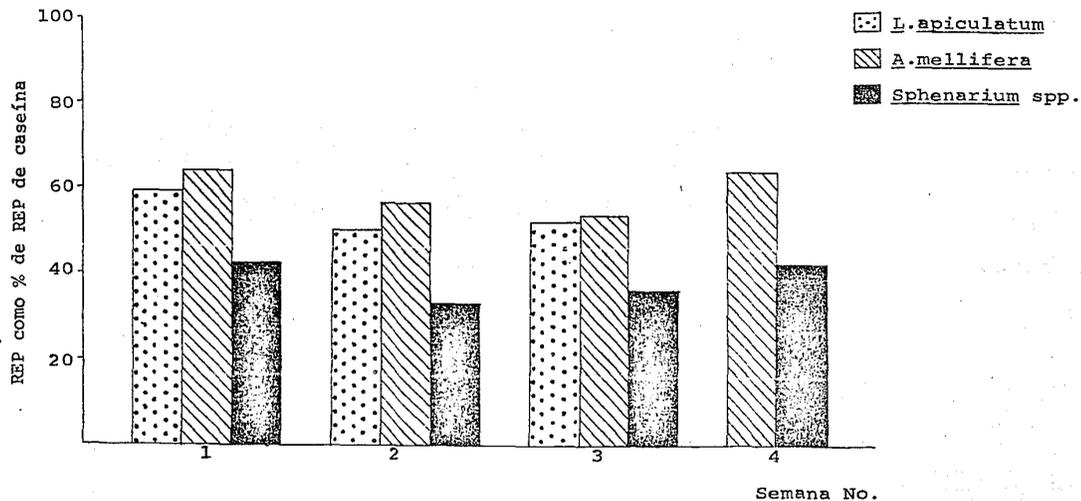


FIG. 3. Valores de REP respecto a caseína para cada insecto comestible en el transcurso de las semanas.

CUADRO 12.

Utilización neta de la proteína (UNP)
de tres insectos comestibles

Fuente de la proteína de la dieta						
Caseína (T-1)	<u>Liometopum apiculatum</u>	Caseína (T-2)	<u>Apis mellifera</u>	Caseína (T-3)	<u>Sphenarium spp.</u>	
54.17	30.81	59.84	47.33	54.50	30.39	
52.25	32.30	54.72	42.82	44.12	24.51	
42.31	52.14	60.29	33.25	60.35	32.03	
52.17	46.55	55.86	40.64	61.71	26.15	
57.08	45.93	55.52	31.16	51.51	28.99	
60.43	45.41	55.03	47.60	47.86	24.87	
	35.37		34.09	52.32	37.01	
			40.82	47.52	35.35	
			41.74		31.64	
			48.35			
\bar{x}	53.07	41.20	56.88	40.78	52.49	30.10
DE \pm	6.14	8.28	2.50	6.20	6.19	4.42
n	6	7	6	10	8	9

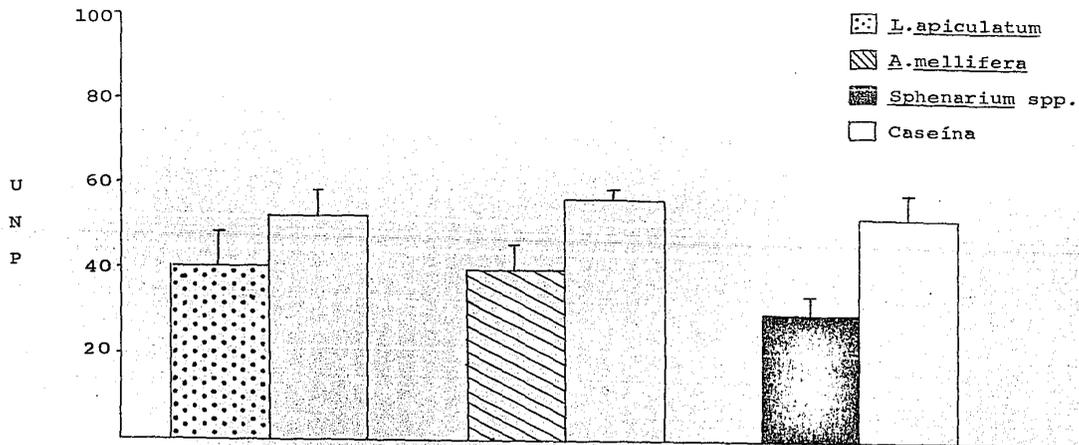


FIG. 4. Valores de UNP para cada insecto comestible y sus respectivos testigos.

con dietas de insectos de las alimentadas con dieta de caseína; estas diferencias son estadísticamente significativas.

Aunque la duración de este bioensayo y la época de experimentación fueron distintas entre los lotes de ratas alimentadas con insectos, se efectuó también un análisis estadístico con la finalidad de tener una apreciación más objetiva al comparar los valores de UNP, obteniéndose que no hubo diferencia significativa entre los lotes de ratas alimentadas con L. apiculatum de las alimentadas con A. mellifera; mientras que entre las alimentadas con L. apiculatum de las alimentadas con Sphenarium spp. sí la hubo, al igual que entre A. mellifera de Sphenarium spp. La comparación entre UNP's de lotes de ratas alimentadas con insectos se realizó también en forma proporcional a caseína (Cuadro 15), tal como se efectuó en el bioensayo REP; lo que se aprecia en la Fig. 6, es que L. apiculatum resultó con un valor proporcional a caseína mayor, seguido por A. mellifera y finalmente para Sphenarium spp.

3.3 Digestibilidad Aparente (DA). Los resultados para este bioensayo se presentan de manera semejante a los anteriores y se reúnen en el Cuadro 13. Las medias de DA para cada lote de ratas alimentadas con las dietas de material entomológico y caseína se esquematizaron en la Fig. 5, en donde se aprecian las diferencias que son estadísticamente significativas. Además se efectuó la comparación estadística entre los lotes de ratas alimentadas con insectos, aquí la duración del

CUADRO 13.

Digestibilidad aparente de la proteína (DA)
de tres insectos comestibles

Fuente de la proteína de la dieta					
Caseína (T-1)	<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u>	Caseína (T-2)	<u>Apis</u> <u>mellifera</u>	Caseína (T-3)	<u>Sphenarium</u> <u>spp.</u>
95.02	86.63	95.45	85.08	93.27	77.11
95.60	87.86	94.37	87.83	91.23	80.11
93.00	87.98	96.05	84.00	93.83	78.38
95.48	88.57	95.87	86.82	92.23	78.77
96.75	86.43	93.83	86.12	93.22	78.95
94.89	88.12	94.89	76.79	92.53	73.86
	82.26		85.16	93.80	79.78
	86.84		88.32	93.17	80.00
			87.38		72.72
			87.83		
\bar{x}	95.12	95.08	85.53	92.91	77.74
DE \pm	1.23	0.87	3.38	0.87	2.70
n	6	6	10	8	9

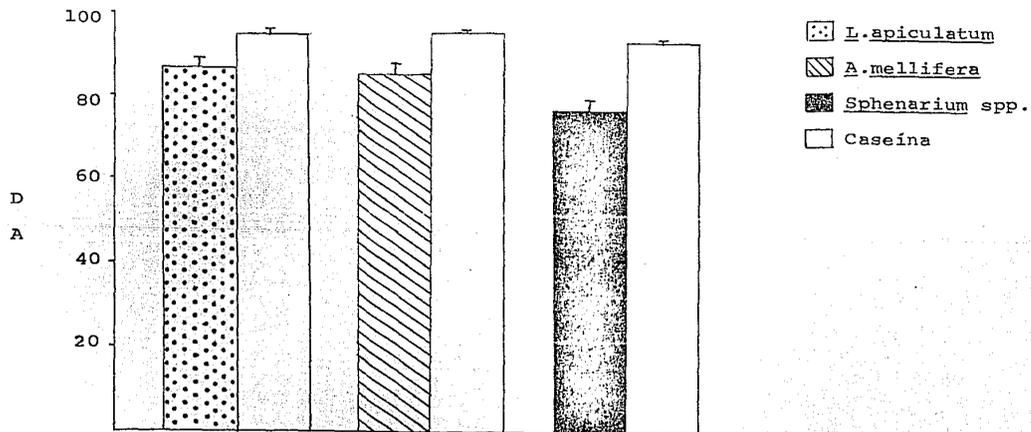


FIG. 5. Valores de DA para cada insecto comestible y sus respectivos testigos.

bioensayo para todos los lotes experimentales fué la misma, - pero no la época en que se realizaron, por lo que ha de tomarse con cierta reserva; la DA de L. apiculatum no tuvo diferencia significativa con la de A. mellifera, pero sí con la DA - de Sphenarium spp., al igual que la hubo entre A. mellifera - con Sphenarium spp. También se compararon los valores proporcionales de DA respecto a caseína entre los tres insectos comestibles (Cuadro 15 y Fig. 6), obteniéndose el siguiente orden descendente : L. apiculatum, A. mellifera y Sphenarium -- spp.

3.4 Valor Biológico (VB). Es la proporción de nitrógeno - absorbido que es retenida para mantenimiento y crecimiento, - es decir, $\Delta B/A$, o

$$\frac{\Delta B}{A} \quad \text{ó} \quad \frac{I - (F-F_k) - (U-U_k)}{I - (F-F_k)} \quad \dots (a)$$

Si no se hacen las correcciones pertinentes a pérdidas en dógenas y metabólicas (que son determinadas por el consumo de las ratas de una dieta libre o casi libre de nitrógeno), el - valor obtenido se denomina valor biológico aparente, o sea :

$$\frac{I - F - U}{I - F} \quad \dots (b)$$

También puede definirse en términos de nitrógeno corporal, en cuyo caso la definición de VB y VB aparente es :

$$VB = \frac{\Delta B}{A} = \frac{B - B_k}{I - (F-F_k)} \quad \dots (c)$$

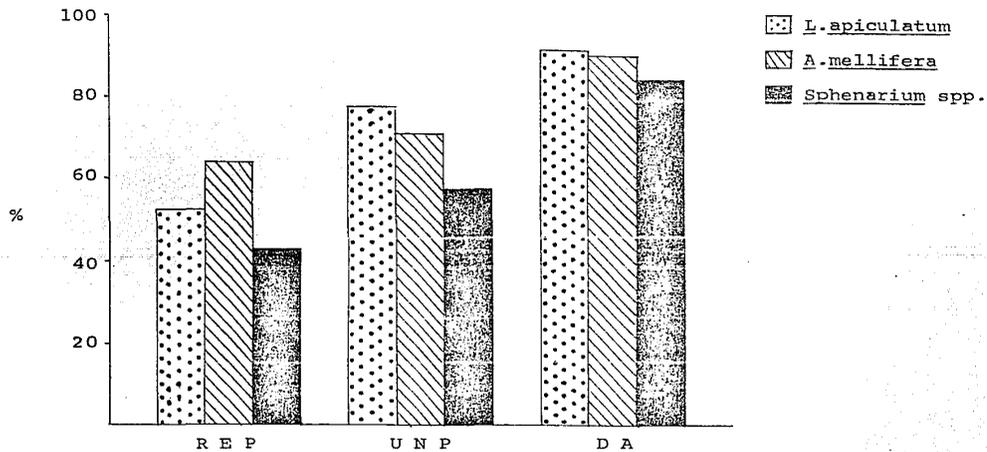


FIG. 6. Valores de REP, UNP y DA de tres insectos comestibles respecto a los de caseína .

$$VB \text{ aparente} = \frac{B - B_0}{I - F} \quad \dots (d)$$

Se expresa ya sea como razón con respecto a la unidad, o en una escala porcentual.

Como se observa aquí, se involucran el nitrógeno absorbido y el retenido, mismos que se han determinado experimentalmente aquí a través de los bioensayos de digestibilidad (D) y utilización neta de la proteína (UNP) respectivamente. Las expresiones matemáticas que los definen son :

Digestibilidad (D), se define como la proporción de nitrógeno del alimento que es absorbida :

$$\frac{A}{I} = \frac{I - (F - F_k)}{I} \quad \dots (e)$$

Este valor se expresa a menudo como "digestibilidad verdadera"; si no se hace la corrección por pérdidas metabólicas en las heces, el valor se denomina "digestibilidad aparente"

$$\frac{I - F}{I} \quad \dots (f)$$

Y la utilización neta de la proteína (UNP) es la proporción del nitrógeno ingerido que es retenido, o sea que es el producto de multiplicar el valor biológico por la digestibilidad.

$$UNP = VB \times D \quad \dots (g.1)$$

$$UNP = \frac{\Delta B}{A} \times \frac{A}{I} = \frac{\Delta B}{I} \quad \dots (g.2)$$

$$UNP = \frac{I - (F - F_k) - (U - U_k)}{I} \quad \dots (g.3)$$

También puede definirse en términos de nitrógeno corporal:

$$\frac{A}{I} = \frac{B - B_k}{I} \quad \dots (h)$$

en este caso, la digestibilidad está incluida en el índice y no puede expresarse separadamente a menos que se haya realizado un análisis de heces fecales.

Si no se hace la corrección por pérdidas endógenas de nitrógeno, el valor se denomina UNP aparente, es decir :

$$\frac{I - F - U}{I} \quad \dots (i)$$

$$\text{ó} \quad \frac{B - B_0}{I} \quad \dots (j)$$

En donde :

- A = nitrógeno absorbido = $I - (F - F_k)$
- B = nitrógeno corporal
- B_k = nitrógeno corporal a ingestión cero de nitrógeno
- B_0 = nitrógeno corporal al tiempo cero
- F = nitrógeno fecal
- F_k = nitrógeno metabólico (fecal endógeno)
- I = nitrógeno ingerido
- U = nitrógeno urinario
- U_k = nitrógeno urinario endógeno

(Pellett et.al., 1980).

Ahora bien, lo que se obtuvo experimentalmente aquí, está representado por las ecuaciones (f) y la (i), que correspon--

den a la digestibilidad aparente y utilización neta de la proteína aparente, ya que no se determinó el nitrógeno por pérdidas metabólicas ni endógenas. Por lo que se pudo obtener el dato correspondiente al valor biológico aparente (ecuación d) a partir de la ecuación (g.1), de la forma siguiente :

$$\begin{array}{l} \text{Si} \qquad \qquad \qquad \text{UNP} = \text{VB} \times \text{D} \\ \text{entonces} \qquad \qquad \text{VB} = \text{UNP}/\text{D} \qquad \dots \text{ (k)} \end{array}$$

Empleando la ecuación (k) y los datos de REP y UNP determinados experimentalmente se calcularon los datos del VB de los tres insectos comestibles y sus testigos correspondientes que aparecen en el Cuadro 14, en este cuadro el VB de A. mellifera es muy semejante al calculado para L. apiculatum, el primero es de 47.68 y para el segundo de 47.44, mientras que para Sphenarium spp. de 38.72, sin considerar a sus respectivos testigos. También se obtuvieron los VB's para cada uno de los insectos como proporción del VB de la caseína, reportados en el Cuadro 15, cuyo orden ascendente es : Sphenarium spp. (68.53%), A. mellifera (79.71%) y L. apiculatum (85.03%).

Hasta aquí se tiene una apreciación más clara de la calidad biológica de las proteínas de los insectos estudiados, -- así los valores de REP, UNP, DA y VB proporcionales a los de caseína son mayores al 50%, excepto para REP de Sphenarium spp. (43.02%) (Cuadro 15). No obstante se ha incluido una lista de los valores de los bioensayos para 14 alimentos de origen animal y vegetal que reporta la FAO (1970) con el objetivo de compararlos con la calidad proteínica de los tres insectos --

CUADRO 14.

Valores biológicos (VB) calculados de tres insectos comestibles y de la caseína.

Fuente de la proteína de la dieta.	VB
<u>Liometopum</u> <u>apiculatum</u>	47.44
Caseína (T-1)	55.79
<u>Apis</u> <u>mellifera</u>	47.68
Caseína (T-2)	59.82
<u>Sphenarium</u> <u>spp.</u>	38.72
Caseína (T-3)	56.50

CUADRO 15.

Valores de : relación de eficiencia de la proteína (REP), utilización neta de la proteína (UNP), digestibilidad aparente (DA) y valor biológico (VB) de tres insectos comestibles respecto a los de caseína.

Fuente de la proteína de la dieta.	Como % respecto a caseína (100 %)			
	REP	UNP	DA	VB
<u>Liometopum apiculatum</u>	52.31	77.63	91.30	85.03
<u>Apis mellifera</u>	63.96	71.69	89.96	79.71
<u>Sphenarium spp.</u>	43.02	57.36	83.67	68.53

estudiados en este trabajo. Esta lista aparece en el Cuadro - 16 en donde se reportan los valores de REP, UNP, D y VB, además se calcularon los valores proporcionales respecto a caseína, con la finalidad de simplificar la comparación entre los obtenidos para los insectos; la última columna del cuadro corresponde a los valores de VB respecto a caseína ordenados en forma descendente para apreciar la ubicación de la caseína -- biológica de los alimentos, observándose que los insectos están entre el grupo de alimentos de origen vegetal. Se eligió el bioensayo VB para el acomodo descendente porque teóricamente involucra a UNP y D, como ya se mencionó. Esta comparación aunque útil, debe considerarse con cierta cautela por diversas razones : UNP y D reportadas por la FAO no indica si son aparentes o no; los valores obtenidos para el bioensayo - VB de los tres insectos se calcularon aquí a partir de los experimentales de UNP y DA, mientras que ignoramos si los reportados por la FAO de los catorce alimentos enlistados sean los obtenidos directamente en experimento; además en cuanto al desarrollo experimental de los bioensayos, en técnicas, lugares y tiempo pueden diferenciarse de los obtenidos en este trabajo respecto a la FAO.

CUADRO 16.

Valores de bioensayos para evaluar la calidad proteínica de algunos alimentos.

Alimento	REP	REP*	UNP	UNP*	D	D*	VB	VB*
Huevos de gallina	3.92	137.06	93.50	129.68	97.00	100.73	93.70	117.57
Leche de vaca	3.09	108.04	81.60	113.18	96.90	100.62	84.50	106.02
Caseína de leche de vaca	2.86	100.00	72.10	100.00	96.30	100.00	79.70	100.00
Pescado	3.55	124.13	79.50	110.26	85.00	88.27	76.00	95.36
Vaca y ternera	2.30	80.42	66.90	92.79	99.30	103.12	74.30	93.22
Germen de trigo	2.53	88.46	67.00	92.93	88.20	91.59	73.60	92.35
Soya	2.32	81.12	61.40	85.16	90.50	93.98	72.80	91.34
<u>L. apiculatum</u>	1.70	52.31	41.20	77.63	86.84	91.30	47.44	85.03
Avena	2.25	78.67	65.70	91.12	-	-	64.90	81.43
Trigo integral	1.53	53.50	40.30	55.89	90.90	94.39	64.70	81.18
Arroz	2.18	76.22	57.20	79.33	97.90	101.66	64.00	80.30
<u>A. mellifera</u>	2.13	63.96	40.78	71.69	85.53	89.96	47.68	79.71
Maíz	1.12	39.16	51.10	70.87	90.30	93.77	59.40	74.53
Gluten de trigo	-	-	38.60	53.54	95.00	98.65	58.20	73.02
Frijol	1.48	51.75	38.40	53.26	72.80	75.60	58.00	72.77
<u>Sphenarium</u> spp.	1.11	43.02	30.10	57.36	77.74	83.67	38.72	68.53
Lentejas	0.93	32.52	29.70	41.19	85.00	88.27	44.60	55.96

* como % con respecto a caseína

VI. CONCLUSIONES

1. Respecto al contenido de aminoácidos de las proteínas de origen entomológico, se detectó una marcada deficiencia - de triptofano en los tres insectos comestibles : A. mellifera, L. apiculatum y Sphenarium spp., en especial para este último respecto a la proteína de referencia FAO/OMS 1973.

2. La cantidad de proteína cruda en peso seco resultó mayor para Sphenarium spp. respecto a A. mellifera y L. apiculatum, pero la calidad biológica de la proteína del primer - insecto fue menor que la de los otros dos.

3. En general, la calidad biológica de las proteínas de los tres insectos comestibles es buena, ya que los valores de los bioensayos REP, UNP, DA y VB calculado son mayores - al 50% respecto a los obtenidos para caseína (proteína de - leche de vaca). Y respecto a otros alimentos comunes, los - insectos tienen una calidad biológica que se les puede in - cluir dentro del grupo de alimentos de origen vegetal, por - lo que combinados pueden seguir variando y enriqueciendo la dieta del mexicano.

VII. B I B L I O G R A F I A

- AGUIRRE, M., 1979. Memorias del curso de actualización sobre análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. En noviembre, s/l. s/Ed.
- ANCONA, L.H., 1931. Los chilocuales o gusanitos de la sal de Oaxaca. An.Inst.Biol.Univ.Méx. 11 : 265-277.
- ANCONA, L.H., 1932. Los jumiles de Taxco. An.Inst.Biol.Univ.-Méx. IV : 134-140.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists) 1975.- Official Methods of Analysis. 12th., Ed. William Horwitz (Washington, D.C.) 832 pp.
- AUFRET Y TANGUY, 1947-1948. Note sur la valeur alimentaire - des termites. Bull.Méd. de L'A.O.F., 3 : 395-396.
- AVILA, R.H., 1982. Nutrición y Salud : Conceptos inseparables Cuadernos de Nutrición INNSZ 5 (4) : 17-32.
- BACHSTEZ, M. y ARAGON, A., 1945. Notes on Mexican Drugs, ---- Plants and Food III. Ahuautli the mexican caviar. Journal of American Pharmaceutical Association XXX (V) : 170
- BADUI, D.S., 1981. Química de los alimentos, Ed. Alhambra Mexicana, la. ed., México D.F., 430 pp.
- BASSO, S.C. y ESCALANTE, B.R., 1947. Contribución al conocimiento del valor bromatológico de la langosta común ---- (Schistocerca cancellata) y de sus huevos. Rvta.Fac.Univ. Rep. Uruguay 44 : 229-237.
- BAYONA, C.A., 1964. Aprovechamiento de recursos naturales --- accesibles. México en la Cultura, 22 nov. : 3-4.
- BERMUDEZ, G., 1983. Del taco al filete. Información Científica y Tecnológica CONACYT, Méx. 5 (78) : 29-33.
- BLASQUEZ, I., 1870. Insectos del maguey. Naturaleza 1 : 39-47 México.
- BODWELL, C.E., 1979. The nutritive value of the same protein-preparations as estimated by human, rat and chemical --- assays. J.Am. oil chemists Soc. 56 : 156-159.

- BODWELL, Ph.D., 1975. Evaluation of proteins for humans. The-Avi Publishing Company, INC Beltsville, USA, 327 pp.
- BORROR, D., DELONG, D. y TRIPLEHORN, Ch., 1976. An introduction to the study of insects. 4th, USA (Holt, Rinehart and ---Winston) 852 pp.
- BOURGES, H., CHAVEZ, A. y ARROYO, P., 1970. Recomendaciones de nutrimentos para la población mexicana. Div. de Nutrición Publicación 1-17 INNSZ, 3a.ed., México, 53 pp.
- BRISTOWE, W.S. et.al., 1953 Insects as food. Proceeding Nutrition Society 12 : 44-48.
- BRUNING, J.L. and KINTZ, B.L., 1977. Computational Handbook - of statistics. Scott Foresman and Company, USA, 2nd.th., - 308 pp.
- CALVERT, C.C., MARTIN, R.D. and MORGAN, N.O., 1969 a. Dual roles for house flies in poultry manure disposal. Poultry - Sci. 48 : 1793.
- CALVERT, C.C., MARTIN, R.D. and MORGAN, N.O., 1969 b. House fly pupae as food for poultry. J.Econ.Ent. 62(4) : 938-939
- CIGUERRI, O., 1981. Let them eat algae. New Scientist, 24 ---sept. (traducido al español en Información Científica y -- Tecnológica CONACYT, 1982, México 4 (62) : 20-23).
- CLAVIJERO, S.P., 1826. Historia antigua de México, trad. José-J.de Mora, T.I, Londres, Publica R.Ackermann, Strand, 432 pp.
- CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), 1983. El-amaranto. Información Científica y Tecnológica CONACYT, - Méx. 5 (8) : 7.
- CONCONI, J.R.E.de y BOURGES, H., 1977. Valor nutritivo de --- ciertos insectos comestibles de México y lista de algunos insectos comestibles del mundo. Anal.Inst.Biol.Méx., Ser.--Zool. 48 (1) : 165-186.
- CONCONI, J.R.E.de y PINO, J.M., 1979. Insectos comestibles -- del Valle del Mezquital y su valor nutritivo. Anal.Inst.-BicLUNAM., Ser.Zool. 50 (1) : 563-574.
- CONCONI, J.R.E.de y PINO, J.M., 1980. Entomofagia, en gustos-- se rompen... Expansión XII (300) : 63-71.

- CONCONI, J.R.E.de, PINO, J.M. y GONZALEZ, O., 1981. Digestibilidad "in vitro" de algunos insectos comestibles en México. Folia Entomológica Mexicana 49 : 141-154.
- CONCONI, J.R.E.de, BOURGES, H. y PINO, J.M., 1982. Valor nutritivo y calidad de la proteína de algunos insectos comestibles de México. Folia Entomológica Mexicana 53 : 111-118.
- CONCONI, J.R.E.de, 1982. Los insectos como fuente de proteínas en el futuro, Ed. Limusa, México, 1a.ed., 144 pp.
- CONCONI, J.R.E.de y PINO, J.M., 1984. Esos deliciosos insectos comestibles. Revista de Geografía Universal 18 (2) : -147-160.
- CRAVIOTO, R.O., MASSIEU, G., GUZMAN, J. y CALVO DE LA TORRE, J. 1951. Composición de alimentos mexicanos. Ciencia Méx. - XI (5-6) : 129-155.
- CUADRIELLO, A.J.I., 1980. Consideraciones biológicas y económicas acerca de los escamoles (Hymenoptera-Formicidae). - Tesis, Fac. de Ciencias UNAM, 106 pp.
- DAS, S., 1945. Locusts as food and manure. Indian Fmg. 6: 412
- DAVALOS, H.E., 1966. Alimentos básicos e inventiva culinaria del mexicano. Serie de peculiaridades mexicanas, SEP, Méx 62 pp.
- DAVILA, G.M.E., 1983. El potencial de los alimentos no tradicionales en Información Científica y Tecnológica CONACYT Méx. 5 (84) : 5-6.
- DEFOLIART, T., 1975. Insects as source of protein. Bull.Ent.--Soc.Amer. 21 (3) : 161-163.
- DELAGE-DARCHEN, B., 1983. Nutrition: Larves, une source de protéines. Revue française d'apiculture 424 : 526-527.
- DEWEY, M.C., 1978. Insects and human nutrition. American Bee Journal 18 (6) : 388-389.
- DIAZ DEL CASTILLO, B., s/f. Historia verdadera de la Conquista de la Nueva España Vol. I, Cap. 92, s/Ed., México.
- DONADIEU, Y., 1979. La jalea Real. Las terapéuticas Naturales Ed. Maloine, París, 32 pp.
- DOUBILET, D., 1981. Alimentos del mar. Información Científica y Tecnológica CONACYT Méx. 3 (44) : 5-9.

- FAO, 1970. Contenido en aminoácidos de Los alimentos y datos-biológicos sobre las proteínas. Por el Servicio de Ciencia y política de la Alimentación, Dirección de Nutrición 285 pp.
- FAO/WHO, 1973. Energy and Protein Requirements. Report of a joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee. World Health Organ Tech.Rept.Ser. 522, Geneva, Switzerland.
- FIGUEROA, F.M., MASSIEU, R.O.G. y CRAVIOTO, R., 1959. Nuevos datos sobre el valor nutritivo de algunos insectos comestibles mexicanos. An.Soc.Biol. Pernambuco XVI (1) : 91 - 104.
- GALLARDO, C., 1982. Los recursos alimenticios del mar. Información Científica y Tecnológica CONACYT, Méx. VII (43) : 45-51.
- GANONG, W.F., 1966. Fisiología médica, 3a.ed., Ed. El manual-moderno, Méx.D.,F., 666 pp.
- GARRIDO, C., 1983. Entrevista a Rodolfo Quintero, Información Científica y Tecnológica CONACYT, Méx. 5 (78) : 34-38.
- GIRAL, 1982. La nutrición y los alimentos en el encuentro de dos mundos (3a.parte) Cuadernos de Nutrición INNSZ 5 (4) : 3-8.
- GUILLEN, A., 1981. Los problemas actuales de la Economía Mexicana. Estrategia 1 (37) : 30-40.
- HERNANDEZ, I., 1980. En el campo, mayor presencia proletaria. Estrategia 6 (36) : 48-63.
- HOFFMAN, E., 1947. Insects as human food. Entomological Society of Washington 49 (9) : 233-237.
- HOWARD, L.O., 1915. The edibility of insects. Journal Econ. Ent. 8 (6) : 549.
- HUIDOBRO, J., 1983 a. La industria alimentaria en México. Información Científica y Tecnológica CONACYT, Méx. 5 (78) : 22-23.
- HUIDOBRO, J., 1983 b. Población : Los dos extremos del problema (entrevista a Pedrero, M. y Jiménez, R.) Información Científica y Tecnológica CONACYT, Méx. 5 (84) : 38-40.
- INI (Instituto Nacional Indigenista), 1946. Hábitos alimenticios. Boletín Indigenista VI (3) : 186-191.

- INNSZ (Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán") 1984. Manual de técnicas de Laboratorio para análisis de alimentos. Publicación L-63 INNSZ, México.
- JANSEN, G.R., 1978. Biological Evaluation of protein Quality. Food Technology, december.
- KOK, R., 1983. The production of Insects for human food. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 16 (1) : 5-18.
- KRITCHEVSKY, D. and ALFIN-SLATER, R.B., 1980. Nutrition and - the adult macronutrient. Plenum Press, New York and London.
- LACHANCE, P.A., 1971. Protein quality and PER : concepts important to future food. Food Product Development. June-July : 39-66.
- LENHINGER, A., 1975. Biochemistry. New York, Worth, 2nd. th. 1104 pp.
- LOZANO, L.A., 1978. Estudio preliminar sobre alimentación de pavos (Meleagris gallopavo L.) con concentrado de insectos en confinamiento o praderas. Monterrey N.L. s/l, Te sis, 67 pp.
- MALAISE, F., et PARENT, G., 1980. Les chemilles comestibles - du Shaba Meridional (Zaire). Les Nat. Belges 61 (1) : 2-24.
- MARQUEZ, C., 1962. Estudio preliminar de las especies del género Sphenarium basado en sus genitalia (Acrididae-Orthoptera) con la descripción de una especie nueva. An. Inst. Biol. UNAM. 33 (1 y 2) : 247-256.
- MAZUR, A. y HARROW B., 1967. Bioquímica básica. Ed. Interamericana, 9a. ed., México D..F., 546 pp.
- MC.HARGUE, J.S., 1917. A study of the proteins of certain insects with reference to their value as food for poultry. J. Agr. Res. 10 (12) : 633-637.
- METCALF, C.L. y FLINT, 1976. Insectos destructivos e insectos útiles (Sus costumbres y su control). México D.F., CECSA 1208 pp.
- MILLER, B.F., 1969. Digestion of poultry manure by diptera. - Poultry Sci., 48 : 1844.
- MOTTRAM, R.F., 1979. Human Nutrition, 3a. ed. Food-Nutrition-Press, Inc. Great Britain, 179 pp.

- OCIO, E.R., VIÑARAS and REY, J.M., 1978. House fly larvae meal grown on municipal organic as a source of protein in poultry diets. III Congreso Mundial de Alimentación Animal , - Madrid, España A-3-07.
- PACHECO, A., 1980. Larva de mosca (*Musca domestica* L.) alternativa como fuente de proteína en la cría de codorniz (*Cu--turnix* sp.) Tesis. Depto de Zootecnia, UACH, México 38 pp
- PACHECO, E.J.H., 1979. Evaluación de la gallinaza con pupas y larvas de mosca casera (*Musca domestica* L.) como ingre--dientes en raciones de iniciación para pollos de engorda-Tesis s/l.
- PAPP, L., 1975. House fly larvae as protein source from pig manure. Folia Entomológica Hung. 29 (1) : 127-136.
- PELETT, P.L., 1978. Protein Quality Evaluation Reviseted. -- Food.Tech. mayo : 60-79.
- PELETT, P.L. y YOUNG, V.R., 1980. Evaluación nutricional de -alimentos Proteínicos. Univ. Naciones Unidas, Tokyo, Ja--pón, 175 pp.
- REY, J.M., VIÑARAS R. and OCIO, E., 1980. Larvae house flies -- (*Musca domestica*) as immediate biotransformers for obtaining protein. Nut.Abs.Rev. 50 (2) : 56.
- REYES, G.C., 1975. Empleo de insectos como complemento alimenticio para bagre (*Ictaluras punctatus* R.) Monterrey N.L.-Tesis s/l, 74 pp.
- REYES, M.R., 1980. Estudio preliminar de la larva de mosca --- (*Musca domestica* L.) como fuente de proteína en dieta para pollos. Tesis. Chapingo, 200 pp.
- SAHAGUN, F.B., 1830. Historia general de las cosas de la Nueva España T.III Cap. V del llo. libro, s/Ed., México.
- SATTERLEE, L.d., MARSHALL, H.F. and TENNYSON, J.M., 1979. Measuring Protein Quality J.Am. Oil Chemists Soc. 56 : 103-109.
- SLOMIANSKI, R., 1983. Entrevista con el Dr. Adolfo Chávez : La Nutrición en México. Información Científica y Tecnológica CONACYT, México. 5 (78) : 26-28.
- SOSA, P.E., 1981. Manual de procedimientos analíticos para alimentos de consumo animal. Chapingo, México, 115 pp.
- SOTELO, A., 1981. Leguminosas silvestres. reservas de proteínas para la alimentación del futuro. Información Cientí-

fica y Tecnológica CONACYT, México 3 (34) : 28-31.

- TEOTIA, J.S., and MILLER, B.F., 1973 a. Fly pupae as a dietary ingredient for startin chicks. Poultry Sci. 52 :1830-1835.
- TEOTIA, J.S., and MILLER, B.F., 1973 b. Enviromental condit---tions affecting development of house fly larvae in poultry manure. Env.Ent. 2 (3) : 329-333.
- TEOTIA, J.S. and MILLER, B.F., 1974. Nutritive content of hou---se fly pupae and manure residue. Bo.Poultry Sci. 15 : -177-182.
- THION, L., 1946. A propos des termites au point de vue alimen---taire. Bull.Agric. Congo Belge 37 : 865-868.
- TORRES, V.S., 1977. Prueba preliminar de utilización de insectos (Anastrepha ludens L.) en raciones para pollos de engorda en iniciación. Tesis, Monterrey N.L. s/l.
- TREJO, S.F., GARCIA, A. y RUBIO, A., 1974. Investigación para la introducción de un nuevo producto alimenticio (insectos). Tesis, Fac. Cont. y Admón. UNAM, 126 pp.
- VILLASANA, G.J., 1981. Producción de larvas de moscas (M.do---mestica L.) y su evaluación biológica como fuente de proteína y energía en raciones para aves. Tesis UACH, Méx.-188 pp.
- WAYNE, W.D., 1977. Bioestadística (Base para el análisis de las Ciencias de la Salud) Ed. Limusa. 1a.ed., 485 pp.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1974. The principles of Insect physiology- Ed. Halsted Press, USA, 7a.ed., 827 pp.
- WOLPERT, E. s/f. Alteraciones del metabolismo de las proteí---nas en la Insuficiencia Hepática en Nutrición y Metabo---lismo No. 8 Esfera Médica Merck, 8pp.

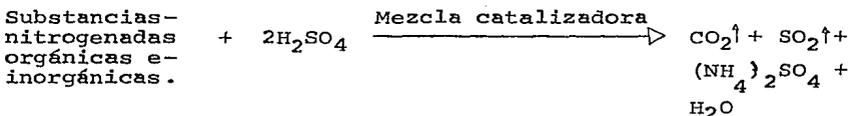
VIII. A P E N D I C E S

I. ANALISIS BROMATOLOGICO

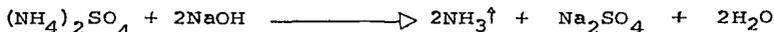
A. Determinación de proteínas. Se realizó por el método-Macrokjeldahl (A.O.A.C., 1975) que evalúa el nitrógeno total, por lo que se incluye el de proteínas (aminoácidos), compuestos orgánicos nitrogenados no proteínicos como aminas, vitaminas del complejo B, ácidos nucleicos y glucosídicos nitrogenados, clorofilas, compuestos inorgánicos nitrogenados como sales de amonio, amoniaco, nitratos y nitritos. Por ello se denomina determinación de Proteína Cruda (Sosa, 1981).

a. Fundamento. Este método está basado en las siguientes reacciones : la primera es una reacción de oxido-reducción mediante un oxidante fuerte, el ácido sulfúrico concentrado. A esta reacción se le llama de digestión. Los compuestos que contienen carbono son oxidados a CO_2 y H_2O por el H_2SO_4 y éste se reduce a SO_2 , compuesto que reduce el nitrógeno proveniente de compuestos orgánicos e inorgánicos a NH_3 ; este NH_3 en presencia de H_2SO_4 se convierte en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Esta reacción se efectúa en presencia de una mezcla catalizadora de K_2SO_4 , compuesto que se emplea para incrementar el punto de ebullición del H_2SO_4 y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ que acelera la reacción.

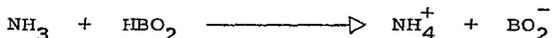
La reacción que se efectúa en la digestión es la siguiente :



Obtenido el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ se hace reaccionar con una solución concentrada de NaOH para formar el NH_3 , la reacción es:



El NH_3 obtenido, es un gas que se destila por arrastre de vapor y se recibe en una solución de HBO_2



El HBO_2 cede un protón al NH_3 que es una base y se forma el ion amonio y el ion borato. En virtud de que cada átomo de

nitrógeno presente se forma un ión BO_2^- , éste puede neutralizarse con una solución valorada de HCl y en forma indirecta-conocer el contenido de nitrógeno.

La reacción de neutralización es la siguiente :



Cuando todo el BO_2^- ha sido neutralizado se determina la reacción cuyo punto final es señalado por un indicador (Sosa, 1981).

b. Material y equipo :

- | | |
|--|--|
| - Perlas de ebullición | - mortero |
| - bureta | - probetas de 50 y 100 ml |
| - pipetas | - matraces Erlenmeyer de 500 ml |
| - aparato digestor y destilador Kjeldahl Lab-Conco | - balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg |
| - balanza granataria | |
| - matraces de Kjeldahl de 800 ml | |

c. Reactivos :

- Mezcla digestora, mezclar 200 g de sulfato de potasio; 20 g de sulfato cúprico pentahidratado; 5 g de dióxido de selenio sublimado para síntesis. Moler el sulfato cúprico hasta que el tamaño de partícula sea similar a la del dióxido de selenio, posteriormente hacer lo mismo con el sulfato de potasio. Es necesario que al manipular el dióxido de selenio se tenga mucha precaución, recomendable usar mascarillas. Guardar la mezcla en un frasco bien tapado.

- Sosa al 50%
- ácido sulfúrico concentrado
- zinc granulado
- ácido bórico al 2%
- rojo de metilo : disolver 0.1 g de rojo de metilo en 60 ml de alcohol etílico y diluir a 100 ml con agua destilada.
- ácido sulfúrico 0.1 N

d. Procedimiento. En general, este método consta de tres pasos :

- Digestión : pesar de 0.5 a 1.0 g de muestra en un papel libre de nitrógeno, pasarlo a un matraz kjeldahl (800 ml), añadir 8.5 g de mezcla digestora, 25 ml de ácido sulfúrico concentrado y unas perlas de ebullición. Prender el extractor de humos y las parrillas de calentamiento. A partir de -- que el líquido esté transparente calentar de una a dos horas más. Enfriar y proceder con la destilación.
- Destilación. Colocar en el tubo terminal del refrigerante del aparato, un matraz Erlenmeyer con 50 ml de ácido bórico

rico diluido con dos gotas de rojo de metilo. Prender las parrillas y abrir la llave de agua de los refrigerantes. Añadir 300 ml de agua destilada al matraz con la muestra digerida -- previamente enfriado, disolver bien, enfriar si es que se ha calentado por la adición de agua, añadir unas granallas de -- zinc (0.5 g) y 90 ml de sosa al 50% lentamente de manera que se formen dos estratos. Conectar el matraz a la trampa y agitar. Destilar aproximadamente 250 ml, apagar la parrilla e inmediatamente sacar la terminal del refrigerante del matraz Erlenmeyer y lavar con una piseta que tenga agua destilada.

- Titulación. Titular el líquido destilado con ácido-sulfúrico 0.1 N o 0.01 N dependiendo de la cantidad de nitrógeno que se espera encontrar. El punto final de la titulación será cuando al adicionar una gota más de ácido sulfúrico diluido haya un vire de amarillo a rosa (A.O.A.C., 1975).

e. Cálculos :

$$\% N = \frac{(A-B) (\text{Meq.N}) (\text{Normalidad del ácido}) (100)}{\text{Peso de la muestra}}$$

En donde :

A = ml gastados de H_2SO_4 diluido por el problema

B = " " " " " " " blanco

Meq.N = miliequivalentes del nitrógeno, cuyo valor es de 0.014

% N = proporción de nitrógeno total contenida en cada 100 g de muestra

La proporción de nitrógeno total obtenida se multiplica por el factor 6.25

% de Proteína cruda = (% N) (6.25)
para obtener el valor correspondiente a la proporción de proteína cruda que existe en cada 100 g de muestra.

El factor variará dependiendo del alimento, pero en forma generalizada se emplea 6.25; este factor se obtiene partiendo de que 16 g de nitrógeno están en 100 g de proteína, entonces 1 g de nitrógeno estará en 6.25 g de proteína.

$$100 (1 \text{ g}) \div 16 = 6.25 \text{ gramos de proteína contienen 1 g de nitrógeno (Sosa, 1981).}$$

B. Determinación del Extracto etéreo. El extracto etéreo contiene : grasas, aceites, ceras, fosfátidos, cerebrosidos, lipoproteínas, pigmentos liposolubles, ácidos orgánicos liposolubles, esteroides y vitaminas liposolubles.

a. Fundamento. Este método se funda en la extracción continua mediante calor de todas las sustancias solubles en éter dietílico provenientes de una muestra seca. La razón por la -

que la muestra debe secarse antes de la determinación de extracto etéreo, es que el azeótropo éter-agua disuelve compuestos polares, principalmente carbohidratos solubles, los cuales al extraerse alteran el valor numérico del extracto etéreo. Un azeótropo es una mezcla de dos o más solventes en de terminada proporción, en la que el solvente puro y la mezcla destilan a la misma temperatura. El extracto etéreo obtenido es calentado a 100°C durante 30 minutos para eliminar los compuestos volátiles extraídos (Sosa, 1981).

b. Material y equipo :

- Cartucho de material poroso o papel filtro
- vasos para el extractor Goldfish Lab-Conco
- soportes con cartucho
- recolectores
- desecador con material secante
- extractor de grasa Goldfish Lab-Conco
- estufa de secado
- balanza analítica

c. Reactivos ; éter etílico anhidro.

d. Procedimiento. Pesar de 2.5 a 5.0 g de muestra dentro del cartucho y colocarlo en un soporte. Poner el soporte en el aparato, prender las parrillas y abrir la llave de agua colocar de 60 a 80 ml de éter etílico anhidro en los vasos -- puestas a peso constante. Colocar el vaso en el aparato y subir la parrilla. Dejar 6 horas aproximadamente y hacer la --- prueba con papel filtro o vidrio de reloj para saber si la ex tracción llegó a su fin. Ya extraída la grasa, quitar el so-- porte con el cartucho y colocar el recolector. Destilar y co-- lectar el éter con cuidado. Los vasos con el extracto etéreo se colocan en el desecador y la estufa hasta que estén a peso constante (A.O.A.C., 1975).

e. Cálculos :

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{(B-A)(100)}{PM}$$

En donde :

- B = peso del vaso con grasa
- A = peso del vaso
- PM= peso de la muestra

C. Determinación de Fibra cruda. Se determina celulosa, hemicelulosa y lignina, lo anterior en el caso de vegetales. En el caso de los insectos, su "Fibra cruda" se considera a todas las sustancias de difícil digestión, pudiendo estar integrada por sustancias como la quitina que es un polisacárido estructural que forma una parte del exoesqueleto de los insectos.

tos.

a. Fundamento. Este método consiste en someter la muestra seca y desengrasada a una primera digestión ácida y posteriormente a una segunda digestión alcalina. La materia orgánica -- del residuo obtenido se considera el contenido de fibra cruda. Al efectuar la digestión ácida se disuelve parte de las hemicelulosas y al efectuar la digestión alcalina se disuelve parte de la lignina; por lo tanto, el producto final no puede considerarse como la totalidad de la fibra y los resultados obtenidos por este método son menores que los reales.

b. Material y equipo :

- | | |
|-----------------------------|----------------------------------|
| - Vaso Berzeliiu de 600 ml. | - crisoles |
| - probeta | - desecador con material secante |
| - perlas de ebullición | - embudo buchner |
| - gendarme y agitador | - Kitasato |
| - pinzas para crisol | - estufa de secado |
| - vidrio de reloj | - balanza analítica |
| - mufla (600°C) | |

c. Reactivos :

- Sosa 0.313 N (1.25 g de sosa / 100 ml de agua)
- ácido sulfúrico 0.255 N (1.25 g de ácido / 100 ml de agua). Checar frecuentemente la normalidad de estos dos reactivos.
- asbesto tratado
- alcohol etílico
- antiespumante o perlas de ebullición

d. Procedimiento. Pesar 2 g de muestra desengrasada y seca, 0.5 o 1 g aproximadamente de asbesto tratado y transferirlos a un vaso Berzelius. Añadir 200 ml de ácido sulfúrico diluido hirviendo y 4 o 5 perlas de ebullición. Calentar el vaso en el aparato condensador, rotar periódicamente los vasos para evitar que los sólidos se peguen en el vaso. Dejar hervir por 30 minutos exactamente, filtrar, lavar hasta pH neutro con --- agua caliente. Dejar secar y pasar el residuo al vaso y añadir 200 ml del álcali hirviendo, hervir 30 minutos, filtrar y lavar con 25 ml de ácido diluido caliente y 3 porciones de 50 ml de agua caliente. Por último añadir 25 ml de etanol.

Dejar secar por dos horas a 130°C, enfriar en un desecador y pesar. Calcinar a 600°C por 30 minutos, enfriar en desecador y pesar.

e. Cálculos :

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(A-B) (100)}{PM}$$

En donde : A = peso del crisol con muestra seca
B = peso del crisol con muestra calcinada

Este % F.c. (fibra cruda), se refiere al material desen--
grasado, por lo que se realiza el cálculo para expresarlo en -
la proporción de F.c. por cada 100 g de muestra seca engrasada

Si 100 - % E.e. = x
Entonces % F.c. = (% f.c.) (x) ÷ 100
En donde :

- % F.c. = proporción de fibra cruda en 100 g ---
de muestra engrasada.
- % f.c. = proporción de fibra cruda en 100 g de
muestra seca sin grasa.
- % E.e. = proporción de extracto etéreo en cada
100 g de muestra seca.
- x = la suma de las proporciones de los si-
guientes nutrimentos : proteína cruda,
fibra cruda, cenizas y extracto libre-
de nitrógeno.

El asbesto tratado que se menciona en esta determinación-
se procesa del modo siguiente :

Lavar con ácido sulfúrico una cierta cantidad de fibra de
asbesto, extender en una cápsula de porcelana, dejar reposar,
escurrir el exceso de ácido, enjuagar con agua destilada, para
posteriormente calentar por 16 horas a 600°C en mufla. Después
hervir durante 30 minutos con H₂SO₄ 0.255 N, filtrar, lavar y
repetir el procedimiento con NaOH 0.313 N . Secar y calcinar-
por 2 horas a 600°C (A.O.A.C., 1975).

D. Determinación de humedad.

a. Fundamento. Esta técnica se basa en la evaporación to-
tal del agua entre 50-60°C hasta peso constante. Se considera-
que la pérdida de peso es agua (Sosa, 1981).

b. Material y equipo :

- Recipientes de 8.5 cm de diámetro de cristal, porce-
lana o aluminio
- pinzas para crisol
- espátula
- desecador
- balanza analítica
- estufa de secado

c. Procedimiento. Pesar de 2 a 5 g de muestra en un recipiente puesto previamente a peso constante. Secar en la estufa hasta peso constante a 50°C para evitar destruir proteínas ter molábiles. Enfriar en el desecador y pesar (A.O.A.C., 1975)

d. Cálculos :

$$\% \text{ humedad} = \frac{(B-A)(100)}{PM}$$

En donde :

B = peso del recipiente con la muestra húmeda
 A = peso del recipiente con la muestra seca
 PM = peso de la muestra

E. Determinación de cenizas. Comprende sales minerales.

a. Fundamento. Esta determinación se basa en someter la muestra a combustión entre 550 y 600°C. La materia orgánica es oxidada, y al residuo que contiene la materia mineral se le llama cenizas (Sosa, 1981).



b. Material y equipo :

- Crisoles de porcelana o platino
- mechero de gas
- pinzas para crisol
- triángulo de porcelana
- desecador con material secante
- mufla a 500 ± 10°C
- balanza analítica

c. Procedimiento. Pesar de 2 a 5 g de muestra en un crisol puesto a peso constante y carbonizar bajo la flama de un mechero hasta que no haya desprendimiento de humo. Calcinar en una mufla, cuidando de que la temperatura no sea mayor, pues se volatilizan los cloruros. Dejar 2 horas, enfriar en el desecador y pesar. Regresar el crisol a la mufla por 30 minutos, enfriar y pesar. Repetir este paso hasta obtener un peso constante ---- (A.O.A.C., 1975)

d. Cálculos :

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(B-A)(100)}{PM}$$

En donde :

B = peso del crisol con cenizas

A = peso del crisol
 PM = peso de la muestra

NOTA : los resultados obtenidos pueden reportarse en peso para base húmeda o seca.

F. Determinación del extracto libre de nitrógeno.

Esta se calcula por diferencia; siendo que la suma de las proporciones en base seca de : Proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno debe ser de 100 y puesto que se determinaron las cuatro primeras la proporción correspondiente a extracto libre de nitrógeno -- puede calcularse así :

% Extracto libre de nitrógeno = $100 - (P.c.+E.e.+F.c.+C.)$

En donde : P.c. = proteína cruda (proporción)
 E.e. = extracto etéreo "
 F.c. = fibra cruda "
 C. = cenizas "

2. ANALISIS DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS

El método consiste en : (1) Separar los aminoácidos por medio de columnas de resina sintética de intercambio iónico (poliestireno sulfonado) utilizando como eluyentes soluciones reguladoras de citrato de sodio en concentraciones diferentes y pH's. (2) Formar un complejo colorido por la reacción del aminoácido (eluyente) en la ninhidrina a una temperatura óptima. Y (3), la intensidad del color de cada uno de los aminoácidos es función de su concentración, esta intensidad se registra -- automáticamente obteniéndose una gráfica en papel semilogarítmico. El área bajo la curva representa la concentración del aminoácido.

Para separar los aminoácidos de una proteína por cromatografía en columna, es necesario romper los enlaces peptídicos de la proteína por medio de una hidrólisis ácida controlada.

La ventaja de la hidrólisis mediante ácidos estriba en -- que se evita la racemización, con lo que los aminoácidos se obtienen como α - aminoácidos. La mayoría de los aminoácidos -- resisten la acción de los ácidos minerales a la temperatura de ebullición, a excepción del triptofano, que se cuantifica por métodos colorimétricos o enzimáticos. Por otra parte, la cisteína y metionina se destruyen parcial o totalmente durante la hidrólisis ácida, por lo que deben oxidarse previamente, para modificar su estructura química; ésto se logra con tratamiento con ácido per fórmico, con lo cual la cisteína se convierte en ácido cistéico y la metionina en la sulfona correspondiente, -- que son resistentes a la hidrólisis ácida (INNSZ, 1984).

A. Hidrólisis ácida de la muestra.

a. Material.

Evaporador rotatorio al vacío, baño de aceite, matraces redondos de 250 ml, refrigerante, filtros de papel Whatman No. 42, probetas de 100 ml, pipetas de 1, 2 y 5 ml, propipeta y matraz aforado de 25 ml.

b. Reactivos.

Acido clorhídrico 6 N, solución buffer de citrato de sodio 2 N con un pH de 2.2

c. Procedimiento.

Antes de someter la muestra a la hidrólisis, debe desengrasarse y determinarle el contenido de proteína.

Pesar por duplicado 25 mg de proteína de la muestra desengrasada y colocar en matraces redondos. Someter una de ellas a la oxidación con ácido per fórmico; a la otra, adicionarle 60ml

de HCl, calentar a reflujo en un baño de aceite a 120°C (el tiempo depende del tipo de muestra); no existe una referencia en donde se citen exactamente los tiempos de hidrólisis más adecuados para cada muestra, sin embargo se sabe que oscilan entre 16 y 24 horas, siendo más largos para proteínas vegetales y más cortos para proteínas de origen animal. Transcurrido el tiempo necesario para completar la hidrólisis, filtrar con papel Whatman No. 42 y evaporar el filtrado al vacío hasta eliminar completamente el HCl, lavar 2 o 3 veces con porciones de agua destilada, evaporar en cada ocasión. El residuo que queda en el matraz, recuperarlo con solución buffer de citrato de sodio pH 2.2 y aforar a 25 ml con la misma solución.

B. Oxidación de la muestra.

a. Material.

Evaporador al vacío, pipetas volumétricas de 1 y 5 ml y matraz redondo de 250 ml.

b. Reactivos.

Acido per fórmico (mezcla de 4.5 ml de ácido fórmico -- al 80% y 0.5 ml de peróxido de hidrógeno al 30%), ácido clorhídrico 6 N, y solución buffer de citrato de sodio 2 N con pH de 2.2

c. Procedimiento.

Añadir 1.5 ml de ácido per fórmico a la muestra desengrasada que contiene los 25 mg de proteína y que están en un matraz redondo y reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se evapora el ácido al vacío y enjuagar el residuo de 2 a 3 veces con agua destilada, evaporar esta agua en cada ocasión. Una vez oxidada la muestra, hidrolizar de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.

La muestra así preparada queda lista para el análisis -- cromatográfico en columna con resinas de intercambio iónico -- del analizador automático de aminoácidos Beckman modelo 116, -- empleando como eluyentes buffer de citrato de sodio a pH's de 3.28, 4.25 y 5.25.

Cálculos.- para conocer la concentración de cada uno de los aminoácidos en la proteína problema, calcular el área bajo la curva de cada uno de los picos obtenidos en la gráfica; relacionar esta área con la de un estándar de concentración conocida y previamente calculado, de la forma siguiente :

$$\begin{array}{l} \text{Concentración del} \\ \text{aminoácido de la --} \\ \text{muestra problema} \end{array} = \frac{\text{Área del a.a. problema}}{\text{Área del a.a. estándar}} \times \begin{array}{l} \text{Concentra-} \\ \text{ción del --} \\ \text{a.a. están} \\ \text{dar.} \end{array}$$

Una vez obtenida esta concentración, realizar los cálculos correspondientes para reportar gramos de aminoácidos (a.a.) por 100 g de proteína (o mg a.a./16 mg N). Sumar todas las cantidades obtenidas, incluyendo el triptofano, y el total debe aproximarse a 100; de lo contrario puede pensarse que el tiempo requerido para hidrólisis no fué suficiente o bien fué excesivo (INNSZ, 1984).

C. Determinación del contenido de triptofano.

a. Material.

Espectrofotómetro, tubos de ensaye, pipetas de 1, 5 y 10 ml, matraces volumétricos de 25, 50 y 100 ml, estufa a 65°C.

b. Reactivos.

Solución reguladora de acetato de sodio 0.1 N con un pH de 7, solución de papaína al 0.4 % en solución reguladora de acetato de sodio, solución de p-dimetilaminobenzaldehído al 0.5 % en HCl 12 N, solución de nitrito de sodio al 0.2 %, alcohol etílico de 96 GL, solución tipo triptofano con una concentración 0.5μ moles/ml.

c. Procedimiento.

Pesar en tubos de ensaye 0.3 g de la muestra problema y añadir 12 ml de la solución de papaína, incubar a 65°C durante 16 horas. Transcurrido este tiempo filtrar en papel Whatman No. 41 y tomar por duplicado 1 ml y colocar en tubos de ensaye; uno de los tubos servirá como blanco y añadir 5 ml de HCl 12 N y al otro añadir 5 ml de la solución de p-dimetilaminobenzaldehído y dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente en la obscuridad. Transcurrido el tiempo añadir a todos los tubos 5 ml de alcohol y de 4 a 6 gotas de la solución de nitrito de sodio, dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente en la obscuridad. Leer la absorbancia a 620 nm, correr al mismo tiempo una curva patrón con cantidades conocidas de triptofano, que contienen de 0.1 a 0.5μ moles/ml y darles el mismo tratamiento que a las otras muestras.

Cálculos.- con las lecturas de absorbancia trazar una curva patrón de absorbancia contra concentración, donde se interpolan las lecturas de las muestras problema, para obtener la cantidad de triptofano. Hacer los cálculos para 100 g de proteína (INNSZ, 1984).

3. BIOENSAYOS

A. Método Mikrokjeldahl.

Empleado en este estudio para determinar el contenido de proteína de las excretas, y así determinar el valor de Digestibilidad aparente. Este método se usó debido a la limitada cantidad de muestra fecal disponible.

El fundamento de esta técnica es el mismo que para el método macrokjeldahl mencionado en el apéndice 1.

a. Material.

Matraces mikrokjeldahl de 30 ml, matraces de Erlenmeyer de 125 ml, pipetas de 1 y 10 ml, buretas y aparato mikrokjeldahl.

b. Reactivos.

- Mezcla digestora : moler 3 g de sulfato de cobre --- (CuSO_4) y 3 g de óxido de selenio; mezclar junto con 300 ml de ácido sulfúrico y 100 ml de ácido fosfórico.

- Solución indicadora : pesar 100 g de fenolftaleína y disolverlos con alcohol etílico en un matraz volumétrico de 100 ml; y pesar 33 g de verde de bromocresol con 66 g de rojo de metilo, y disolverlos en un matraz volumétrico de 100 ml.

- Solución de ácido bórico : disolver 10 g de ácido bórico en aproximadamente 1400 ml de agua destilada, añadir 70-ml de la solución indicadora de fenolftaleína y 20 ml de la solución de verde de bromocresol-rojo de metilo. Aforar a 2 l con agua. Ajustar el color a café rojizo con sosa diluida --- (aproximadamente una gota de sosa 0.1 N).

- Solución de NaOH al 60% y solución de ácido clorhídrico o sulfúrico 0.01 N.

c. Procedimiento.

Pesar de 50 a 75 mg de muestra, colocarlos en un matraz mikrokjeldahl y añadir 1 o 2 ml de mezcla digestora y digerir durante 1 hora aproximadamente. Enfriar y proceder a la destilación, agregar 10 ml de agua destilada y a continuación vaciar por la copa de adición del aparato, enjuagar ésta y el matraz mikrokjeldahl con 1 o 2 ml de agua destilada varias veces, en seguida añadir lenta pero continuamente 5 ml de la solución de sosa 60 % y recibir el destilado en un matraz erlenmeyer que contenga 10 ml de la solución de ácido bórico-indicador. Suspender la destilación cuando se tenga un volumen de 50 ml. Al recibirse el nitrógeno amoniacal en el ácido bórico el indicador vira de café rojizo a verde esmeralda. Finalmente titular el complejo nitrogenado con el ácido valorado hasta obtener un color rosa tenue (INNSZ, 1984).

d. Cálculos :

$$\% N = \frac{(\text{volumen de ácido usado})(N.A^{-})(\text{Meq}.A^{-})(100)}{\text{Peso de la muestra}}$$

En donde :

NA^{-} = normalidad del ácido empleado
 $\text{Meq}A^{-}$ = miliequivalente del ácido "

Para obtener el % de proteína cruda, se multiplica el --
% N por el factor 6.25.