

20
2eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE LOS EFECTOS
COLATERALES SOBRE LA MUCOSA INTESTINAL, DE
TRES PIGMENTOS NATURALES EN PEZ DORADO
(*Carassius auratus*)

T E S I S

PRESENTADA ANTE LA DIVISION DE ESTUDIOS
PROFESIONALES

PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
LAURA BERNAL MORALES

ASESOR: M. V. Z. ANA AURO DE OCAMPO

MEXICO, D. F.,

1894

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DEDICATORIAS:

- A mi mami Adelita: todo tu coraje, los consejos, la paciencia y sobre todo el amor que me has dado han hecho posible este pequeño triunfo.
- A mi padre Jorge: sin ti no hubiera sido posible llegar a realizarlo, gracias por estar conmigo.
- A mis hermanos: Jorge y su esposa Nohemi, Adela, Alma y Juan Pablo: ¡Viva la familia!
- A Pedro Pablo: la inocencia, ternura, el angel y la chispa se unieron en 1.20m de estatura y una gran sonrisa de solo 7 años.
- A Jorge y Mau: su presencia es capaz de llenar cualquier lugar de alegría, son terriblemente adorables.
- A Eduardo: se dice que el amor todo lo puede y tu eres el eje principal de mi vida. Te amo.
- A Lily: hay parejas que hicieron historia: Batman y Robin, Landry y Staubach, Lennon y McCartney y tu y yo.

AGRADECIMIENTOS:

A mi jurado:

M.V.Z. Marcela Fragoso Cervón
M.V.Z. Enrique Aburto Fernández
M.V.Z. Ana Auró de Ocampo
M.V.Z. David Paez Esquilano
M.V.Z. Carlos Villagrán Velez

A mi asesora Ana Auró de Ocampo por la gran ayuda y la paciencia para poder realizar este trabajo. Muchas gracias.

Al M.V.Z. Fernando Martínez C. y

M.V.Z. Juan García E.

por su apoyo incondicional y su amistad.

A mis amigos: por los buenos momentos que hicieron más agradable la escuela.

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2-7
HIPOTESIS Y OBJETIVO.....	8
MATERIAL Y METODOS.....	9-11
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	13-15
LITERATURA CITADA.....	16-20
FIGURAS.....	21-26

RESUMEN

Bernal Morales Laura. Evaluación histopatológica de los efectos colaterales sobre la mucosa intestinal, de tres pigmentos naturales en pez dorado (Carassius auratus). (Bajo la asesoría de la M.V.Z. Ana Auró de Ocampo). Se utilizaron 40 crías de pez japonés (Carassius auratus) los cuales fueron alimentados con tres diferentes pigmentos naturales (jugo de zanahoria, betabel y pimienta morrón) a una concentración de 2ml extracto/10 g de alimento durante 4 semanas teniendo además un lote control, los resultados obtenidos después de las lecturas de los cortes histológicos fueron analizados a través de un análisis de varianza y posteriormente por la prueba de Dunnet, encontrándose diferencias significativas entre todos los lotes al ser contrastados con el lote control, se observó un aumento en el número de heterófilos a nivel de mucosa intestinal en el lote 3.

INTRODUCCION

La Piscicultura se ha desarrollado ampliamente ya que representa una fuente de obtención de proteína de origen animal de alta calidad, la cual se obtiene a bajo costo y en sitios donde no se podría realizar el cultivo de otra especie de consumo (32).

La Piscicultura ornamental o acuarofilia es una especialización de la Piscicultura moderna que comprende el mantenimiento y la reproducción de especies de aguas dulces o marinas en acuarios domésticos (25, 26).

Actualmente, en países como Japón, Alemania, Italia, Inglaterra y Estados Unidos ha alcanzado un desarrollo comercial de enorme importancia (1).

Millones de personas en todo el mundo tienen una gran afición por los acuarios domésticos siendo, sin duda, el pez dorado (Carassius auratus) uno de los más populares debido a su belleza, diversidad de formas (hay 100 variedades diferentes), la simplicidad de su mantenimiento y su elevada capacidad de adaptación a diferentes condiciones ya sea de alimentación, ambientales etc (1, 11, 17, 31).

De todas las especies cultivadas por el hombre la carpa (Cyprinius carpio) tiene la historia de cultivo más larga, siendo ésta especie la antecesora del pez dorado. Su historia se remonta al año 400 D.C. al sur de China, donde fué coloreada una carpa salvaje de color café-verdoso, las variaciones en su cuerpo y la fineza de sus escamas aparecen alrededor del año 1600, fecha en la cual fué introducido a

Japón por lo que se conoce también con el nombre de pez japonés. A partir de 1700 ya se establece su forma actual y se introduce por primera vez en Norteamérica a mediados del siglo XIX (1, 3, 32).

Pertenece a la familia Cyprinidae, es omnívoro y agastro, posee un intestino alargado cuya longitud es mayor que en las especies carnívoras, aquí es donde se lleva a cabo la digestión, gracias a la acción de distintos productos secretados por la pared intestinal y glándulas anexas (hígado y páncreas). El pH del fluido intestinal varía entre 7 y 8, siendo más neutro en la porción anterior (que es la encargada de la absorción de lípidos) y se hace algo alcalino en la parte posterior (encargada de la captación y degradación de proteínas). Su talla varía de 20-24 cm y tiene un promedio de vida de 10-20 años (17, 25, 30).

La gran demanda del japonés es debido a su gama de colores, dicha coloración está dada por diversos factores:

- genéticos: dado por un pequeño grupo de genes, la pigmentación se produce a diferentes edades y pesos.
- ambientales: como la temperatura (20 -25°C), cambios en la presión del aire, disminución de oxígeno, luz solar, etc.
- alimentación: productos de buena calidad, alimento comercial con un alto contenido de carotenos, acceso al consumo de plantas (algas verdes), etc. (16, 17, 20).

Los peces al igual que otros vertebrados no tienen la capacidad de sintetizar carotenoides por lo que deben de ser administrados en la dieta (2, 8, 13, 21).

Los carotenoides son pigmentos utilizados por diversas industrias:

- Avicultura: se utilizan para la pigmentación de piel, músculo de aves y yema de huevo.
- Piscicultura: en la pigmentación del músculo, tanto de especies comestibles como de ornato.
- Industria Alimenticia: para la pigmentación y elaboración de embutidos, papas fritas, quesos, helados, gelatinas, salsas para pizza, etc.
- Medicina: se ha probado el uso de algunos colorantes involucrados en la baja incidencia de algunas formas de cáncer (5, 14, 29).

La preferencia por el uso de pigmentos vegetales aumenta cada día debido a su baja toxicidad. Se han realizado varios estudios que demuestran un vínculo existente entre el consumo de carotenoides contenidos en zanahorias y pimientos y una menor incidencia de algunas formas de cáncer (23).

Los carotenoides son un grupo muy grande de pigmentos naturales que se encuentran en plantas y animales. Son lípidos en forma de éster que se asimilan a nivel intestinal, son transportados por sangre y depositados en hígado, para posteriormente almacenarse en piel y tejido adiposo. Su capacidad pigmentante está relacionada con el grado de asimilación a nivel de intestino delgado y su afinidad por depositarse en cada tejido. (10, 18, 21, 34).

Son importantes precursores de vitamina A.

Es más elevada la cantidad de carotenoides absorbidos de los que son retenidos, ya que se sugiere son destruidos en tracto gastrointestinal. Actúan también como hormonas de fertilización, en maduración y fecundidad, desarrollan además una función respiratoria. El hígado es el órgano central de su metabolismo, incluyendo su biotransformación, pues es donde son reflejados los efectos positivos o negativos, así mismo tienen un papel positivo en peces ya que aumenta la cantidad de glucógeno almacenado y por lo tanto se elevan las reservas de energía. Los productos de su metabolismo son excretados por bilis (18, 19, 24, 29, 33, 34).

Los carotenoides se dividen en dos grupos:

- 1.- Carotenos: no contienen oxígeno en su molécula como α y β carotenos, son precursores de Vitamina A.
- 2.- Oxicarotenoides o Xantofilas, dentro de los de mayor poder pigmentante se encuentran la luteína, zeaxantina y capsantina. Dentro de las sintéticas se encuentra la capsaxantina y astaxantina (13, 24).

En estudios realizados anteriormente se demostró que una de las funciones de los carotenoides (astaxantina, capsantina y carotenos) es como fuente de provitamina A, se aisló en el pez japonés tanto de piel como de huevos, la conversión a vitamina A se realiza en la pared intestinal (16, 31).

La capsantina al suplementarse proporciona un color rojo. Este pigmento se encuentra en el pimiento morrón (Capsicum annuum) y la cantidad contenida está ligada al grado de

maduración de la planta, contiene además ácido ascórbico, antocianinas y elementos minerales (4, 7, 11). En estudios realizados se procesaron varias muestras de pimiento por calor en los que se encontró una pérdida de pigmento del 20 %, dando lugar a una caramelización de glucosa. (4, 6, 27, 36).

La zanahoria (Daucus carota) se supone originaria de Afganistán. La parte comestible es la raíz de color amarillo-naranja debido a la presencia de carotenoides contenidos de la siguiente manera: alfa-caroteno 2200-4900 μ g, beta-caroteno 4600-10300 μ g, gama-caroteno 630-1270 μ g y luteína 110-560 μ g por cada 100 gramos de planta en fresco (11, 15).

El pez japonés no usa cantaxantina (pigmento sintético) ni el beta-caroteno como precursor de astaxantina (9, 18).

En salmónidos se han administrado 250 μ g de astaxantina por cada 100 g de peso, 24 hrs después se encontraron 3.5-4.5 μ g/ml de sangre siendo esta dosis suficiente para causar anomalías fisiológicas: aumento en la secreción de moco intestinal, aletas elongadas, endoftalmia, etc. sin llegar a causar la muerte (21). El valor de retención de los carotenoides es de 0.19-60 % (8, 29).

El betabel o remolacha de huerta (Beta vulgaris) es una herbácea de tallo grueso, su raíz es modificada y carnosa y al igual que sus hojas, son almacenes de betacianinas; pigmentos utilizados en la alimentación animal y como

colorante de embutidos y productos cárnicos en general, gelatinas, helados, etc. (7, 11, 38).

Las betacianinas son un tipo de alcaloides sensibles al aire, estables a un pH 3-7, altamente afectados por metales, temperatura y rayos ultravioleta, son hidrosolubles e inestables sobre todo en presencia de oxígeno, estables a un pH de 4-5 y 23 °C (22, 24, 37).

El contenido de betacianinas tiene una variación de 23.5 a 38.7 mg/100 g de betabel sin embargo puede alcanzar un rango de 36-135 mg/100 g de betabel con un 90 % de humedad (37).

La utilización de nitrito de sodio como pigmento y conservador de alimentos en la elaboración de embutidos es superada por el uso del betabel debido a su posible contribución en la prevención de cáncer (38).

Basándonos en los datos anteriores se considera relevante realizar pruebas para determinar la toxicidad de los pigmentos, ya que son ampliamente utilizados para incrementar el color en peces de ornato y por lo tanto aumentan los ingresos provenientes de esta industria.

Algunos trabajos de investigación en ésta área han demostrado que existen lesiones entéricas (incremento de heterófilos a nivel de mucosa intestinal) con el uso de colorantes naturales (31), por ello se pretende comprobar estos efectos con 3 pigmentos naturales.

HIPOTESIS

Los carotenoides contenidos en el extracto de zanahoria, betabel y pimiento morrón provocan inflamación de la mucosa intestinal al utilizarse como pigmentantes del pez dorado (Carassius auratus).

OBJETIVO

- A) Observar y evaluar los cambios clínicos en los peces tratados (rechazo de alimento y/o diarreas).
- B) Determinar la presencia de lesiones inflamatorias en el intestino de los peces tratados, con base en el número de heterófilos presentes en mucosa y submucosa entérica.

MATERIAL Y METODOS

El Bioensayo se realizó en el Departamento de Acuicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Se utilizaron 40 crías de pez japonés común distribuidas al azar en 4 lotes de 10 peces, cada uno se consideró una unidad experimental. Se colocaron en peceras con una capacidad de 80 litros y se desparasitaron con ajo molido (Allium sativum) a razón de 8 mg/litro de agua. Este tratamiento duró 3 días sin hacer cambios de agua y se administró junto con el alimento libre de pigmento. El agua de las peceras se mantuvo a una temperatura 21.5 ± 1.5 °C y provistas de un aereador. La dieta diseñada para este trabajo fué la siguiente:

- 300 g de Pasta de Soya
- 300 g de Sorgo
- 200 g de Harina de Pescado
- 100 g de Harina de Carne
- 50 g de Pasta de Girasol
- 1 g de vitaminas
- 1 g de minerales
- 1 tableta de vitamina C

Esta dieta fué elaborada de acuerdo a los requerimientos nutricionales de los peces, a la cual se

agregaron los pigmentos en cantidades fijas: 2ml/10g de alimento. Los pigmentos se obtuvieron por extracción de jugo de zanahoria, betabel y pimiento morrón mediante un extractor de jugos* de 50-60 ciclos, pasándolo después por un papel filtro, se agregaron 2 ml de cada extracto al alimento se formó una pasta homogénea y se adicionó clara de huevo, dejándolo secar hasta formar hojuelas

Se administró de la siguiente manera:

Tratamiento 1 : Testigo.

Tratamiento 2 : 2ml extracto de zanahoria /10g de
alimento

Tratamiento 3 : 2ml extracto de pimiento /10g de
alimento

Tratamiento 4 : 2ml extracto de betabel /10g de
alimento

* TURMIX

Se alimentaron por 4 semanas a razón del 3 % del peso del animal / día. Para evaluar los posibles efectos colaterales a nivel intestinal se sacrificaron por desmedulación las primeras dos semanas 5 animales de cada lote y las siguientes dos semanas los 5 restantes mediante un corte con tijeras por el poro anal hasta el opérculo; se procedió después a la disección de los músculos laterales analizando intestino delgado y grueso, las muestras fueron tomadas aleatoriamente y fijadas en formol al 10% se procesaron por el método de parafina para realizar la tinción con la técnica de hematoxilina/eosina. Posteriormente fueron observados al microscopio, se revisaron 10 campos con el objetivo 40x y se contó el número de heterófilos por campo. Los resultados se cuantificaron mediante un análisis de varianza y posteriormente por la prueba de Dunnet, se contrastó cada lote contra el lote control.

RESULTADOS

No se observó algún cambio clínico como rechazo de alimento, diarreas o muerte de los peces tratados. En el lote 2 el alimento fué adicionado con zanahoria y se observó un cambio en la coloración de los peces la cual varió de naranja a café. Para comprobar los efectos colaterales a nivel intestinal se realizaron tres lecturas independientes de 4 laminillas de cada lote, se tomaron en cuenta 10 campos por laminilla. En el primer muestreo no se encontró algún tipo de alteración. En el segundo muestreo se determinó la presencia de heterófilos de la siguiente manera:

Lote 1: 1 heterófilo por cada 10 campos.

Lote 2: 15 " "

Lote 3: 3 " "

Lote 4: 3 " "

Se hizo una análisis de varianza (Fig 1) el cual indica que hay diferencias estadísticamente significativas entre el lote 2 contra los otros lotes. Se realizó después la prueba de Dunnet para contraste de medias, asegurando que con un 95 % de confianza los resultados obtenidos fueron altamente significativos (Fig. 2).

Se encontró un aumento en el número de heterófilos en el lote adicionado con pimienta morrón a diferencia de los otros lotes (Fig. 3, 4, 5, 6).

DISCUSION

El cambio en la coloración de los peces del lote 2 pudo ser causado por la fácil oxidación de ácidos contenidos en la zanahoria y la elevada cantidad de carotenoides. Primo ((1979) y Heinonen (1989) reportan que la composición química de la zanahoria está conformada por:

ácido cítrico	90 mg/100 g	de	producto	comestible
ácido málico	240 mg	"	"	"
ácido oxálico	28 mg	"	"	"
α caroteno	2500 μ g	"	"	"
β caroteno	4600-10300 μ g	"	"	"
luteína	300 μ g	"	"	"

Katsuyama et. al. (1988), Flores (1990), MacCallum et. al. (1987), Ramírez (1986) y Segner et. al. (1989) mencionan que los carotenoides son precursores de vit. A considerándola como un eslabón indispensable en la función hipofisiaria, tanto para al estimulación de producción de folículos sexuales como de melatonina.

En peces al estimularse la melatonina hay una dispersión de melanóforos ocurriendo la pigmentación de la piel, por lo que se deduce que la estimulación de melatonina es directamente proporcional al efecto de pigmentación.

Los resultados estadísticos muestran que hubo un efecto irritativo significativo del pimiento morrón y mínimo en los

lotes adicionados con zanahoria y betabel, resultados que coinciden con aquel de Romero y colaboradores (1992).

Este efecto se sugiere que se debe a la elevada cantidad de ácido cítrico, lípidos y principalmente de compuestos aromáticos contenidos en el pimiento.

Primo (1979) y Biacs et. al. (1989) realizaron estudios sobre las propiedades del pimiento, y reportan su composición química de la siguiente manera:

lípidos	0.33 g/100 g de producto comestible		
Ácido cítrico	204 mg	"	"
hierro	1.5 mg	"	"
α caroteno	92 μ g	"	"
β caroteno	2900 μ g	"	"
capsantina	3200 μ g	"	"

En ciertos alimentos de origen vegetal, los frutos intactos contienen precursores de compuestos aromáticos, que por acción enzimática se transforman al ser cortado o triturado el producto. Estos aromas son sustancias volátiles que inciden en gran parte sobre el sentido del olfato y el gusto. En el caso del pimiento, los precursores son sulfóxidos de L-cisteína con un radical unido al S de la cisteína llamado capsaicina, al haber un corte del pimiento se pone en contacto la capsainasa con el sustrato, transformándolo en tisuulfinato, ácido pirúvico y amoníaco. Primo (1979), Basiouny et. al. (1981) y Biacs (1989).

No hay pruebas evidentes de la actividad fagocítica de los heterófilos en peces (como en el caso de los mamíferos), aunque se localizan generalmente en lugares de inflamación. En la mucosa intestinal es normal encontrar 1-4 heterófilos por campo, al haber una estimulación por algún agente extraño se dá la liberación de heterófilos en la sangre, y se considera como una respuesta inespecífica. Roberts (1981).

Tomando lo anterior como referencia y según los resultados del análisis histológico en el que se observó un número elevado de heterófilos en mucosa intestinal, se concluye que el pimiento morrón provoca irritación al utilizarse como pigmentante del pez japonés (Carassius auratus) a una dosis de 2 ml/10 g de alimento.

El pimiento morrón (Capsicum annum) al adicionarse como pigmento en la alimentación de peces de ornato, provoca irritación a nivel de mucosa intestinal, por lo que no se recomienda su uso.

Se obtuvo un hallazgo incidental al adicionar zanahoria (Daucus carota) en la alimentación, ya que provocó un cambio en la coloración de los peces, por lo que sería conveniente realizar un seguimiento de éste tema.

LITERATURA CITADA

- 1.- Andrews, C.: A fish keeper's guide to fancy goldfishes. Tetra Press. Nva Jersey, Estados Unidos. 1987.
- 2.- Avila, G. E., Shimada, A. S. y Llamas, G.: Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. Consultora en Producción Animal. México, D.F. 1990.
- 3.- Bardach, J. E., Ryther, J. H., Maciarney, W. O.: Acuicultura: crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce. Continental. México, D. F. 1990.
- 4.- Basiouny, F. M. and Biswas, P. K.: Ascorbic acid, pigments and mineral elements contents associated with growth and development of pimiento. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 94 : 268-269 (1981).
- 5.- Bauernfeind, J. C.: Carotenoids as food colors. Symposium: Utilization of plant pigments. Food Technology. May (1975).
- 6.- Biacs, P. A. and Daood, H. G.: Studies on the carotenoid pigments of paprika (Capsicum annum). J. Agric. Food Chem 37 : 250-253 (1989).
7. Cronquist, A.: Introducción a la Botánica. Continental. México, D. F. 1984.
- 8.- Choubert; G., Guillow, A. and Fauconneau, B.: Absorption and fate of labeled canthaxanthin in rainbow trout (Salmo

- gairdneri). Acuacultura 87. : 717-720 (1987).
- 9.- Choubert, G. and Trond, S.: Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout feeds various dietary carotenoid concentrations. Acuacultura 81.:69-77 (1989).
- 10.- Dinesen, N.: Toxicology and regulation of natural colors. Symposium: Utilization of plant pigments. Food Technology. May (1975).
- 11.- Enciclopedia de las Ciencias Naturales. Tomo II,III y IV. BRUGUERA México, D.F. 1970.
- 12.- Flores, M. J. A.: Bromatología animal. LIMUSA 3a ed. México, 1990.
- 13.- Hardy, R. W., Torrison, O. J. and Scott, T. M.: Absorption and distribution of C-labeled canthaxanthin in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Acuacultura 87.: 331-340 (1990).
- 14.- Harms, R. H.: The application of pigmentation data for use in poultry production. National Pigmentation Symposium: 21-30 Maryland, USA (1990).
- 15.- Heinonen, M. I.: Carotenoids and provitamin A activity of carrot (Daucus carota) cultivars. J. Agric. Food Chem. 38 160 (1990).
- 16.- Hong, K. N.: Pigmentation of rainbow trout with canthaxanthin as astaxanthin in fresh water and saltwater.

Acuacultura 102. :123-134 (1992).

17.- Horváth, L. and Tamás, G.: Carp and pond fish culture. Fishing new books. Inglaterra. 1992.

18.- Katsuyama, M. and Matsuno, T.: Carotenoid and Vitamin A, and metabolism of carotenoids, β -carotene, canthaxanthin, astaxanthin, zeaxanthin, lutein and tunaxanthin in Tilapia (Tilapia nilotica). Comp. Biochem. Physiol. 90 No. 1 131-139 (1988).

19.- Katsuyama, M., Kumonit, T. Matsuno, T.: Metabolism of three stereoisomers of astaxanthin in the fish rainbow trout and tilapia. Comp. Biochem. Physiol. 86 No. 1 1-5 (1987).

20.- MacCallum, I. M., Cheng, K. M. and March, B. E.: Carotenoid pigmentation in two strains of Chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha) and their crosses. Acuacultura 67 291-300 (1987).

21.- March, B. E. and Hajen, W. E.: Intestinal absorption of astaxantin plasma astaxanthin concentration, body weight and metabolic rate as determinants of flesh pigmentation in salmonid fish. Acuacultura 90. : 313-322 (1990).

22.- Mikova, K.: Effect of glucoxidase on the colour stability of red beet concentration. Sbvrnik Vysok Skoly Chemiko Tech. 58 Praga (1990).

23.- Moore, L.: The natural vs. certified debate rages on. Food Eng. 63 : 69-70 (1991).

24.- Notas didácticas del Jardín Botánico Fco. Clavijero. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Jalapa, Veracruz. 1977.

- 25.- Nutrición en Acuicultura. vol.1 CAICYT. Madrid, España. 1987.
- 26.- Pérez, S. L. A.: Piscicultura, ecología, explotación e higiene. El Manual Moderno. México, D. F. 1982.
- 27.- Philip, T.: Carotenoid esters in plant products. Symposium: Utilization of plant pigments. Food Technology. May (1975).
- 28.- Primo, E, Y.: Química agrícola de los alimentos. vol. III Alhambra. España, 1979.
- 29.- Ramírez, N. P.: Manual de aditivos y suplementos para alimentación animal. Ramiro Ramírez N. México, D.F. 1986.
- 30.- Roberts, J. R.: Patología de los peces. Mundiprensa. España 1981.
- 31.- Romero, L. L., Fragoso, C. M., Auró, de O. A., Ocampo, C. L.: Efecto de la cantaxantina y la capsantina en el pez japonés (Carassius auratus). Vet. Mex. XXIII, 1: 67-68 (1992).
- 32.- Rubin, R. R.: La Piscifactoria, cría industrial de peces de agua dulce. Continental. 8a ed. México 1987.
- 33.- Segner, H., Arend, P., von Poeppinghausen, K.: The effect of feeding astaxanthin to Oreochromis niloticus and Colisa labiosa on the histology of the liver. Acuicultura 74: 381-390 (1989).
- 34.- Torrissen, O. J.: Tissue distribution of C-astaxanthin in the atlantic salmon (Salmo salar). Acuicultura 98 : 381-386 (1992).

- 35.- Torrissen, O. J., Hardy, R. W., Shearer, K. D. and Scott, T. M.: Effects of dietary canthaxanthin level and lipid lever on apparent digestibility, coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Acuicultura **88**: 351-362 (1990).
- 36.- Vamos-Vigyazo, L. and Polacsek-Racz, M.: Relationship between pigment content, peroxidase activity and sugar composition of red pepper (Capsicum annum). Acta Alimentaria, **14**: 173-189 (1991).
- 37.- von Elbe, J. H.: Color stability of betanin. J. Food Sci. **39**: 334-337 (1974)
- 38.- von Elbe, J. H. and Kclement C. H.: Evaluation of betalain pigments as sausage colorants. J. Food Sci. **39**: 128-132 (1974)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

FIGURA 1

ANALISIS DE VARIANZA

VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO
PROMEDIO	13140.625	1	13140.625
ENTRE COLUMNAS	358.22500	3	119.40832
ANCHO COLUMNA	112915000	156	72381410
TOTAL	11620000	160	

F = 16.497100

P < 0.0000001 = ES ALTAMENTE SIGNIFICATIVO

FIGURA 2

RESULTADOS DEL ANALISIS DE DUNNET
PARA CONTRASTE DE MEDIAS

	LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3	LOTE 4
LOTE 1		0.04 *	0.0000073 ***	0.134 *
LOTE 2			0.0000000147 ****	0.06 *
LOTE 3				0.0000012 ***

* SIGNIFICANCIA ESTADISTICA

ESTO SE TRABAJO CON UN LIMITE DE CONFIABILIDAD DEL 95 %

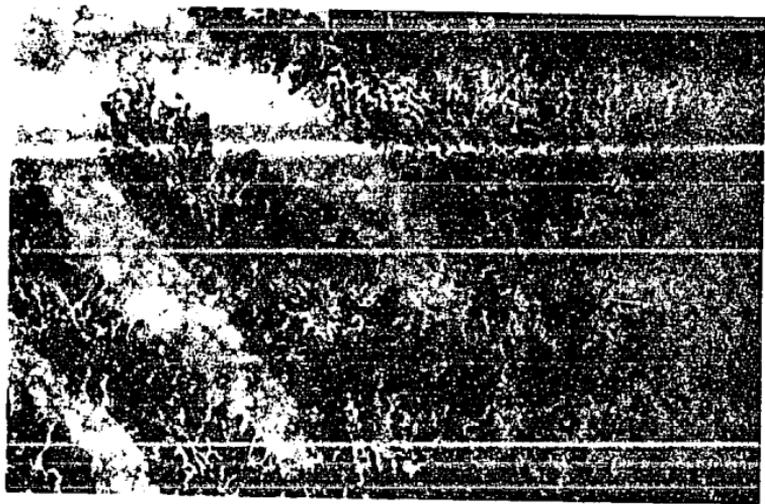


FIGURA 3: Lote Control. Se observa la mucosa intestinal sin presencia de heterófilos.

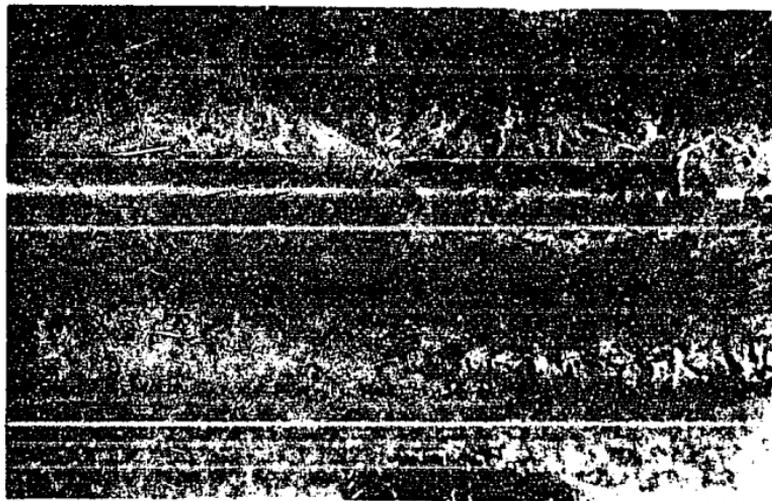


FIGURA 4: Lote adicionado con jugo de zanahoria.

Se observan algunos heterófilos (A) en mucosa intestinal, pero que este número sea significativo.

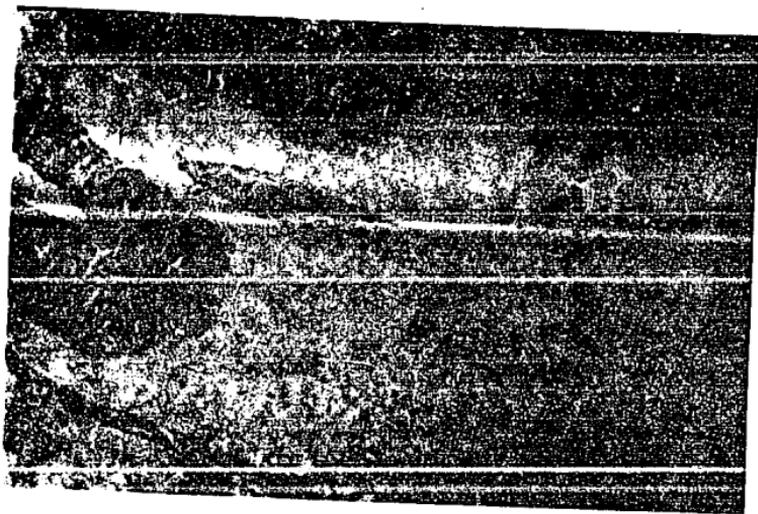


FIGURA 5: Lote adicionado con jugo de pimiento morrón.
Se observa un número elevado de heterófilos (A)
en mucosa intestinal debido al efecto irritativo.

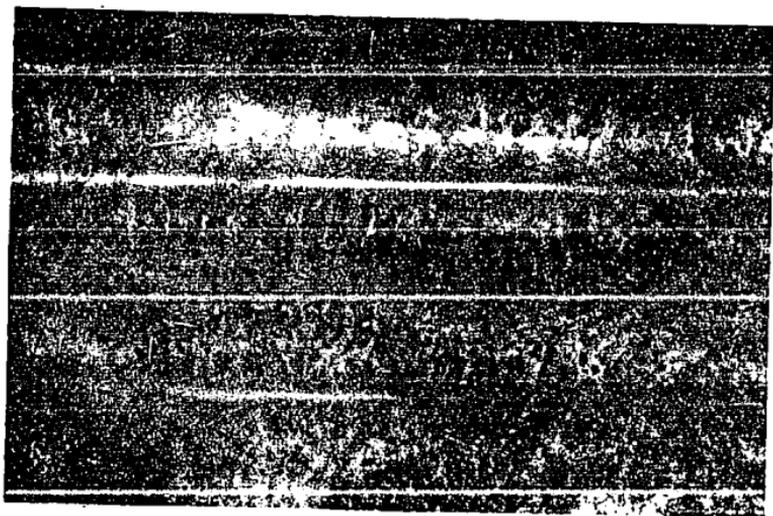


FIGURA 6: Lote adicionado con jugo de lechuga.

No se distingue la presencia de heterófilos.