

00528
74



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**EVALUACION DEL VALOR NUTRICIONAL DE TRES
PESCADOS ENTEROS COMERCIALES DE BAJO COSTO.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
MILET CARMEN PERALTA SOLORIO



MEXICO, D. F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2003

2



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

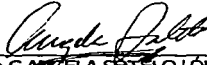
PAGINACION DISCONTINUA

Jurado asignado:

Presidente Prof. ANGELA SOTELO LÓPEZ
Vocal Prof. LUCÍA GABRIELA BASCUÑAN TERMINI
Secretario Prof. LUCÍA CORNEJO BARRERA
1er. Suplente Prof. LETICIA GIL VIEYRA
2do. Suplente Prof. JORGE ALEJANDRO FLORES MALDONADO

Sitio donde se desarrolló el tema: FACULTAD DE QUÍMICA. CONJUNTO E
LABORATORIO 111
CIUDAD UNIVERSITARIA
MÉXICO, D.F.

Asesor del tema


M en C ANGELA SÓTELO LÓPEZ

Supervisor técnico


M en C ROSA MARÍA ARGOTE ESPINOSA

Sustentante


MILET CARMEN PERALTA SOLORIO

La Dirección General de Bibliotecas de la
entidad en formato electrónico e impreso el
de de mi trabajo recensional.
NOMBRE: Milet Carmen
peralta Solorio
FECHA: 16 Junio 2003
Peralta

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser una profesionista y ser participe de experiencias inolvidables.

A la Maestra Angela Sotelo por su confianza y constante interés por este trabajo. Me encantó trabajar con usted, es una persona admirable en todos sentidos. Muchas Gracias.

Al Dr. Javier Miranda por su apoyo y participación en la determinación de minerales y metales pesados.

A Gabriela López Velasco por su apoyo, participación y paciencia en la determinación de ácidos grasos.

A Carlos de Jesús Romero Guzmán por su apoyo y participación en la determinación de aminoácidos.

A Agustín Reyó por su asesoría y participación en la utilización de la liofilizadora.

A todos mis profesores que a lo largo de la carrera me apoyaron haciendo posible esta tesis.

A la Sr. Vicky por regalarme una sonrisa cada mañana y una amistad incondicional.

C

A Lety Gil y Rosita Argote por su apoyo, sus consejos, sus respuestas y por la amistad que me han regalado todo este tiempo. Mil Gracias.

A Javier Bonifaz Gutiérrez por su apoyo y dedicación para la impresión de este trabajo. Gracias.

A Toño, Noriko, Gaby, Ill, Arge, Carlos, Poncho, Hector, Fer, Fernanda, Semef, Claussen, Tibi, Licha, por hacerme el trabajo más ameno y por todos los buenos ratos que compartí con ustedes.

DEDICATORIAS

A mis papas Milet y David por ser lo que son, por siempre estar conmigo apoyándome en todo momento, por respetar mis decisiones. Gracias a ustedes he llegado hasta aquí, no tengo palabras para decirles lo que siento por ustedes. LOS ADMIRO Y QUIERO MUCHO. Muchas Gracias por todo !!!!

A mis hermanos; Eduardo por su ejemplo, David por mostrarme que los sueños pueden hacerse realidad, Alejandro por sacarme siempre una sonrisa y saber que puedo confiar en él, Marco por sus enseñanzas constantes de disciplina y a Edgar por mostrarme que el mundo no es siempre como yo lo veo.

A mis tía Ale por enseñarme que la vida es una sonrisa.

A mis primas Lilí, Laura y Ale por su constante apoyo y por ser las hermanas que no tuve.

A mis tíos Soco, Ana y Andrés por su cariño y apoyo incondicional.

A mis primos Andrés y Julio por todas las risas y buenos momentos que hemos pasado juntos.

A mis tíos Rolando y Rosi por los momentos agradables y por su apoyo durante mi carrera.

A Gina, Paty y Vane por crecer conmigo y demostrarme a cada momento que cuento con ustedes. Los quiero mucho.

A Gaby Stern, Raquel, Donovan, Claussen, Adriana, Susa, Iara, Toño, Puchus, Rodrigo, Pauser, Betina, Luis por su amistad y por la familia que fueron para mí durante estos cuatro años. Los quiero mucho a todos.

A Javier por su cariño, apoyo, dedicación, paciencia, y sobretodo por los viajes tan divertidos que hemos hecho. Te quiero.

ÍNDICE

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2 | OBJETIVOS | 4 |
| | General | 4 |
| | Particular | 4 |
| 3 | ANTECEDENTES | 5 |
| | Descripción de pez | 5 |
| | Diferencias en la composición química entre un pescado de agua dulce y uno de agua salada | 7 |
| | Datos de los pescados a analizar | 8 |
| | Harina de pescado | 11 |
| | Harina de pescado para consumo humano | 14 |
| | Ventajas en la utilización de harina de pescado en alimentos para animales | 15 |
| 4 | PARTE EXPERIMENTAL | 19 |
| | Diagrama general de la investigación | 19 |
| | Información de la muestra | 20 |
| | Descripción de la metodología | 21 |
| | Conservación de la muestra | 21 |
| | Análisis Proximal | 22 |
| | Humedad Analítica | 22 |
| | Cenizas | 24 |
| | Grasa Cruda | 26 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| | Fibra Cruda | 28 |
| | Proteína | 31 |
| | Hidratos de Carbono | 33 |
| | Determinación de minerales y metales pesados | 34 |
| | Factores Antinutricionales | 37 |
| | Inhibidores de Tripsina | 37 |
| | Hemaglutininas | 42 |
| | Determinaciones empleadas para la evaluación nutricional | 47 |
| | Determinación del perfil de ácidos grasos | 47 |
| | Determinación del perfil de aminoácidos | 51 |
| | Determinación de triptofano | 60 |
| 5 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 64 |
| | Composición Proximal | 64 |
| | Determinación de Minerales y Metales Pesados | 70 |
| | Factores antinutricionales | 74 |
| | Ácidos Grasos | 75 |
| | Aminoácidos | 79 |
| | Calificación química | 82 |
| 6 | CONCLUSIONES | 86 |
| 7 | BIBLIOGRAFÍA | 87 |
| 8 | ANEXO | 91 |

1 INTRODUCCIÓN

El pescado tiene una composición en nutrimentos parecida a la de la carne: proteínas de gran calidad, grasas o lípidos, pequeñas cantidades de vitaminas, sales minerales y purinas (principalmente en el azul). Al igual que la carne, no contiene hidratos de carbono y en función de la cantidad de grasa se dividen en pescados magros (0-2% de grasa), semigrasos (2-6% de grasa) y grasos (más de 6% de grasa). El tipo de grasa más abundante es la insaturada, y en los azules abundan los ácidos grasos de la serie omega-3. Destaca así mismo su contenido mineral de yodo, fósforo y magnesio.¹

Las sustancias básicas de las que están compuestos los pescados son agua, proteínas, grasas, vitaminas y minerales, su proporción varía según la especie y el tamaño del ejemplar, además del estado de madurez sexual, de las condiciones del medio donde vivían, y la región del cuerpo que es analizada.

El agua es el compuesto que se encuentra en mayor proporción y ocupa del 64 al 81% del peso del cuerpo, seguido por las proteínas, que son el alimento de mayor valor nutritivo del pescado, existiendo del 17 al 25%; después se encuentran las grasas, cuyo contenido varía considerablemente en relación con la especie.

La vitamina E también está presente en los pescados (aunque en menor concentración). Las vitaminas hidrosolubles, que en su mayor parte integran el complejo B, se localizan en casi todas las especies de pescados; éstas son: la tiamina (**B₁**), la riboflavina (**B₂**), la piridoxina (**B₆**) y la cobalamina (**B₁₂**).

La mayor parte de los elementos minerales se encuentran en los animales acuáticos en concentraciones que permiten responder a las exigencias nutricias cotidianas, con excepción del hierro, ya que los peces se hallan desprovistos de él, a diferencia de las carnes rojas.

Los peces contienen, aparte del yodo, sales de sodio, cobre, cobalto, manganeso, flúor y otros minerales cuya importancia nutricia es reconocida. El calcio y el fósforo están presentes en el pescado en proporciones mejor equilibradas que en las carnes de los animales terrestres.

Las proteínas animales están formadas por 20 aminoácidos, de los cuales ocho son llamados "aminoácidos indispensables" y deben estar incluidos obligatoriamente en la dieta, ya que el organismo no es capaz de sintetizarlos; por esto, el valor nutritivo de un alimento está ligado a su contenido de este tipo de aminoácidos. Los tejidos conjuntivos están menos desarrollados en los peces, por lo que tienen menores proporciones en grasas y huesos, a la vez que contienen suficientes aminoácidos indispensables, lo que les confiere cierta ventaja como alimentos.²

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la causa más importante de muerte en nuestro país. Los niveles altos de colesterol es uno de los factores más importantes que determinan el desarrollo de ésta, los niveles séricos de colesterol están directamente relacionados con el colesterol ingerido, de ahí la importancia de una dieta sana y equilibrada. Un elemento importante dentro de ésta es el consumo de pescado.³ La razón

parece encontrarse en los ácidos grasos omega-3, ya que se cree que reducen el riesgo de trombosis y del mismo modo, ayudan a mejorar el flujo sanguíneo.⁴

El objetivo del presente trabajo es conocer la composición química, así como evaluar el valor nutricional y los factores antinutricionales en tres pescados enteros; sierra, bagre y tilapia, con el fin de incorporarlos a la industria alimentaria, ya que por su bajo costo en el mercado mexicano, muchas veces se consideran fauna de acompañamiento.

2 OBJETIVOS

GENERAL

- ✓ Determinar la composición nutricional de tres pescados enteros comerciales de bajo costo, con el fin de evaluar la posibilidad de incorporarlos, en forma de harina, a un alimento para animales.

PARTICULARES

- ✓ Determinar la presencia de inhibidores de tripsina y lectinas en los pescados analizados.
- ✓ Identificar y cuantificar los aminoácidos presentes en las muestras.
- ✓ Cuantificar e identificar los ácidos grasos presentes en las muestras.
- ✓ Determinar cual de las especies evaluadas presenta mayor posibilidad de adicionarse a un alimento para consumo animal.
- ✓ Comparar la composición química entre una especie de agua dulce y una especie de agua salada.

3 ANTECEDENTES

DESCRIPCIÓN DE PEZ

Los peces independientemente de su forma, poseen ciertas características en común; por ejemplo, todos tienen espina dorsal, poseen agallas y son de sangre fría. La mayoría de ellos también poseen, en adición a las aletas dispuestas a lo largo del dorso y detrás de la cloaca, dos pares de aletas y una gran aleta caudal dispuesta verticalmente.

Aunque parezca extraño, la principal misión de todas estas aletas es en la gran mayoría de los casos, actuar simplemente como estabilizadores y frenos. Unas cuantas especies se deslizan en el agua batiendo rápidamente su aleta dorsal, pero esto es anormal ya que corrientemente es la cola la responsable de la propulsión de los peces. Por cola se entiende toda la parte del cuerpo que se halla detrás de la cloaca y no exclusivamente la aleta caudal, como popularmente se cree.

Los peces poseen seis sentidos o posiblemente siete. Aparte del oído, la vista, el olfato, el gusto y el tacto, los peces tienen en la piel una serie de terminaciones nerviosas sensibles y delicadas, situadas principalmente a lo largo de la línea lateral, que les permiten detectar pequeños movimientos y pequeños cambios en la presión del agua, pueden detectar pequeñas agitaciones del agua causadas por alguna fuente distante. Algunas especies poseen un sentido que virtualmente es de tipo adicional, dichas especies poseen órganos sensibles en la piel y sobre las aletas que les permiten gustar u oler sustancias sin necesidad de tener que ingerirlas.

Todos los peces poseen también a cada lado del cuerpo una tapadera de las agallas muy características llamada opérculo. Cuando el pez inspira, los opérculos se cierran contra el cuerpo de forma que el agua entra solamente por la boca. Cuando el pez expira, la boca permanece cerrada y el agua pasa a través de las agallas y sale por las aberturas situadas detrás de los opérculos.

La estructura de la boca de los peces difiere de una especie a otra. Los peces normalmente no mastican sino degluten. Algunos peces poseen dientes en la garganta para desmoronar los alimentos aglomerados pero ninguno mastica como lo hacen los mamíferos. El alimento pasa directamente al estómago que con frecuencia consiste en una estructura con forma de U que es capaz de distenderse hasta un límite increíble. Los peces cuando disponen de abundante alimento tienden a hartarse y cuando no lo hay ayunan.

Las paredes del estómago contienen glándulas microscópicas que vierten enzimas digestivas tan pronto como el alimento es ingerido. Esto explica el hecho de que los arenques a ser ingeridos se ablanden y desgarran rápidamente; las enzimas del estómago y también de los intestinos, una vez muerto el pez, digieren cualquier proteína que contacte con ellos, incluyendo las de su propio estómago e intestinos.

El hígado es el órgano más grande del cuerpo de los animales vertebrados y realiza una diversidad de funciones vitales. El hígado es primordialmente una fábrica y un almacén; los alimentos son degradados a sustancias más simples por las enzimas del tubo digestivo pasando seguidamente a la corriente sanguínea. Una de las funciones del hígado consiste

en reunir de nuevo estas sustancias almacenándolas. Los azúcares, por ejemplo, se unen originando un tipo de almidón, el *glucógeno* que es almacenado hasta el momento que es requerido. Igualmente la grasa, en algunos peces, es depositada en grandes cantidades en el hígado.

Una importante tarea realizada en parte por el hígado y en parte por el riñón es la desaminación.

Los riñones de los peces se encuentran debajo de la espina dorsal. Los riñones y el tubo digestivo eliminan al exterior los productos de desecho por una abertura común. Los productos de la reproducción, huevos o esperma, también evacuan por dicha abertura.⁵

DIFERENCIAS EN COMPOSICIÓN QUÍMICA ENTRE UN PESCADO DE AGUA DULCE Y UNO DE AGUA SALADA

Por lo general se prefieren los peces de mar a los de río, pese a que sus precios son más elevados que los de aquellos que abundan en nuestras costas.

Existe una diferencia notable en la composición de grasa entre los distintos peces, e incluso en el mismo ejemplar: la mayor concentración de grasa se encuentra debajo de la piel y en la parte ventral del pescado.

El pez de río no es una buena fuente de calcio y hierro, dos de los minerales más importantes en la alimentación: tienen menos hierro y menos calcio que cualquier carne roja.

La carne de pescado contiene grasas insaturadas, a diferencia de las grasas saturadas que contienen las carnes vacunas. "Las grasas saturadas son los sebos que habitualmente tiene la carne de vaca, y son los que originan el colesterol. En cambio, los peces tienen alta concentración de grasas insaturadas y contienen los ácidos grasos Omega 3, que son los que no sólo previenen la formación del colesterol sino que también remueven placas de ateroma cuando está declarada la arterioesclerosis.

Los peces de río tienen menor concentración de ácidos grasos Omega 3 que los de mar. En cuanto a la composición de vitaminas: prácticamente no tienen vitamina C, muy poco de B₁ y B₂, y algo de vitamina A.⁶

DATOS DE LOS PESCADOS A ANALIZAR

Tilapia (Oreochromis & Tilapia sp.)

Esta especie de pez tropical procedente de África se está haciendo cada vez más popular como especie de acuicultura. La Tilapia se ha introducido en todo el mundo y se cría de manera generalizada en los trópicos y las zonas subtropicales. Aunque Asia domina la producción en la actualidad, la Tilapia se cría cada vez más en condiciones controladas en climas templados y se ha adaptado a la cría intensiva en sistemas de recirculación cerrados.

Este pez presenta muchos atributos adecuados para su domesticación y cría. Entre ellos se incluyen la buena calidad y el sabor de su carne, una gran tolerancia a distintos entornos, su resistencia a muchas enfermedades habituales de los peces y la relativa facilidad de reproducción que presenta en cautiverio.

Esta facilidad de reproducción representa en realidad uno de los problemas en cuanto a la optimización de los rendimientos en la cría de Tilapia, ya que este pez se reproduce muy fácilmente, por lo que la energía se desvía del crecimiento hacia las interacciones de comportamiento psicológicas entre los sexos y la producción de huevos. Lo que es más, la reproducción no deseada da lugar a sobrepoblación, a competencia por los recursos y a que se detenga el crecimiento. La solución más efectiva a este problema consiste en criar un único sexo, preferiblemente machos, ya que crecen más rápidamente. Existen numerosas técnicas desarrolladas a tal efecto, entre las que se incluyen la hibridación y el cambio de sexo directo mediante hormonas, pero ninguna de ellas ha logrado este objetivo de forma efectiva, asequible y ambientalmente viable.⁷

Bagre (Arius melanopus)

Es del orden de los siluriformes, de la familia aridae. Se encuentran preferentemente en ríos que desembocan en el mar (esteros). En México se encuentran en Campeche, Celestún, Yucatán, Tecolutla, Veracruz.

Los ambientes estuarinos permiten mantener una ictiofauna ampliamente diversa. Un elemento característico de estos sistemas son los representantes de la familia Ariidae, por su importancia ecológica se consideró importante analizar su papel ecológico con base al tipo de crecimiento, factor de condición, relaciones alimenticias y patrones de abundancia. El análisis estacional de la abundancia muestra que *A. melanopus* es más abundante durante las épocas de lluvias y nortes.

El tipo de crecimiento registrado para *A. melanopus* y *A. felis* correspondió a un crecimiento de tipo alométrico. Por el carácter bentónico de estas especies, las épocas en que consumieron crustáceos y materia orgánica, el factor de condición fue mas alto, mientras que en las épocas que consumieron restos de peces y algas, el factor de condición disminuyó. Por lo anterior se considera que las especies de esta familia son elementos transformadores de energía desde las fuentes originales contribuyendo a mantener el equilibrio ecológico de estos ambientes.⁸

Sierra (*Scomberomorus maculatus*)

La especie *Scomberomorus maculatus*, se distribuye geográficamente desde Massachussets (USA) hasta Río de Janeiro (Brasil), incluyendo el Golfo de México. Se caracteriza por ser una especie pelágica costanera, frecuente en fondos fangosos, arenosos y rocosos. Los juveniles de la misma especie suelen vivir en aguas poco profundas, por lo general inferior a las 3 brazas, y los mayores entre las 6 a 15 brazas, normalmente entran a los estuarios para alimentarse. En cuanto a la pesquería se refiere, son de gran importancia mundial tanto comercial como recreacional, contribuyendo

sustancialmente a la pesca artesanal y ocupando dentro de la economía pesquera nacional y regional uno de los renglones pesqueros. En países como Estados Unidos, Colombia y Brasil esta especie, junto con *S. brasiliensis* y *S. cavalla*, forman parte importante de los recursos pesqueros, no sólo por el volumen, sino también por el elevado valor comercial, razones éstas por las cuales han sido objeto de diversos estudios.

Scomberomorus maculatus presenta un período reproductivo parcial y prolongado, como la mayoría de las especies tropicales, el cual se extiende probablemente entre los meses marzo-junio.

Pescado de agua salada, no alcanza grandes tallas, su longitud máxima es de 1 metro. Son peces que viven cerca de las costas, se alimentan de sardinias y anchoas, es muy común en el oriente del país. Son peces pelágicos muy apreciados por los pescadores, se capturan con red de cerco y anzuelo.⁹

HARINA DE PESCADO

Una proporción considerable de la captura total de pescado no se puede vender como alimento para humano. Parte se tira al mar en forma de vísceras, y de especies carentes de interés. Por otra parte el pescado destinado a consumo humano es procesado de alguna forma antes de alcanzar la fase de venta, dando origen a desperdicios o recortes.

Antiguamente una gran parte de los desperdicios de pescado se usaban como abono, pero en la actualidad solo se destinan a la fabricación de fertilizantes especiales para jardines en cantidades insignificantes. Sin embargo la salida realmente importante es la fabricación de harina de pescado, un producto seco, fácilmente almacenable, que constituye un valioso ingrediente en la alimentación de animales domésticos.⁵

Las harinas de pescado son un ingrediente muy popular de los piensos para animales debido a su elevado valor nutricional. Cuando se obtienen con un proceso correcto poseen un alto nivel de aminoácidos indispensables (especialmente lisina), vitaminas del complejo B (colina, niacina, ácido pantoténico y riboflavina) y minerales (calcio, cobre, hierro, fósforo y otros elementos traza). También es popular por ser bajo en fibra y de fácil producción.

Las harinas de pescado, las sustancias solubles de pescado y los aceites de pescado se obtienen por cocción y posterior prensado de peces enteros del tipo de arenques, sardinas, bogas, tiburones y rayas, o bien los residuos y restos de las industrias de productos pesqueros enlatados, que quedan después de los procesos de fileteado y enlatado. Los restos de pescado usualmente incluyen las cabezas, esqueletos, vísceras y escamas. El rendimiento total se sitúa en torno al 12-18% del peso original del pescado.

La composición química de las harinas de pescado depende de la materia prima empleada (de la especie de pescado y de que se emplee el pescado entero o sus residuos) y del proceso de elaboración. Algunos datos sobre la composición de las harinas de pescado se incluyen en la siguiente tabla:¹⁰

Tabla 1 Composición de harinas de pescado¹⁰

| Componente | Margen porcentual | Comentario |
|-----------------------|-------------------|---|
| Proteína | 50-77 | La mayoría 60-65% |
| Grasa | 5-15 | Máximo deseable 8%, ya que si es menor, la harina es polvorienta |
| Cenizas | 8-33 | El 18% es satisfactorio El 12% en harinas de alto contenido proteínico El 33% en harinas de bajo contenido proteínico |
| Humedad | 6-12 | El 8% es satisfactorio Con el 12% puede haber crecimiento fúngico Con menos del 6% se puede producir calentamiento |
| Fibra | Menos del 1% | Pienso de bajo contenido en fibra |
| Vitaminas | | |
| B₁₂ | 0,2-0,66 mg/kg | |
| Colina | 3 g/Kg | |
| Niacina | 60 mg/Kg | |
| Riboflavina | 6 mg/Kg | |

Debido a la composición química de la harina de pescado es de interés poder incorporarla a alimentos de consumo animal, y más aún si se trata de especies que son de bajo costo. Sin embargo, existe un inconveniente en la incorporación de las harinas de pescado en alimentos para animales ya que su olor es muy predominante, pero para ello se han impuesto niveles máximos de empleo.

Actualmente hay muchos países que producen harina de pescado como por ejemplo; Brasil, Argentina, Gran Bretaña, Canadá, Italia, Perú, Chile, Ecuador y México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

HARINA DE PESCADO PARA CONSUMO HUMANO

En Gran Bretaña con frecuencia se aplica el término <<fish flour>> a la harina de pescado preparada para consumo humano. Este producto normalmente se destina a aquellas zonas en las que, principalmente debido a la pobreza, la dieta de la mayoría de las personas es francamente deficiente en proteína de buena calidad.

No hay duda del valor de la harina de pescado en la dieta de las personas, ya que se han efectuado numerosos estudios sobre poblaciones humanas en diversas zonas deficientes en proteína. Por otra parte hay que tener en consideración que la harina de pescado es un suplemento por lo que tiene que consumirse conjuntamente con otros alimentos. La harina de pescado al ser un alimento concentrado, siendo aproximadamente equivalente una parte de harina de pescado a cinco partes de carne de pescado, puede parecer cara al comprador no instruido.⁵

VENTAJAS EN LA UTILIZACIÓN DE HARINA DE PESCADO EN ALIMENTOS PARA ANIMALES

Los beneficios del consumo de harina de pescado son las siguientes:

AVES (POLLOS PARRILLEROS):

- Rápido crecimiento y mejor conversión del alimento, ocasionando un menor costo de producción.
- Incremento de la inmunidad y menor pérdida de crecimiento a causa de la presencia de enfermedades.
- Mejores resultados en caso de ausencia de medicación dietética rutinaria.
- Mejor desarrollo del sistema nervioso y la estructura ósea.
- Menores pérdidas debido al deterioro del esqueleto a causa de la sepsia, inflamación, celulitis, etc.
- Cambia la composición de grasas en carne con incorporación de bajos niveles de ácidos grasos omega 3 de cadena larga (DHA y EPA), siendo más efectivo que cualquier otro sustituto. Logra que la carne tenga mejor composición de ácido graso en cuanto a la relación omega 3: omega 6 y la presencia de DHA y EPA, sin comprometer la calidad de la carne.

CRIANZA DE AVES PONEDORAS:

- Mayor productividad.
- Mejor resistencia a las enfermedades.
- Mejora la fertilidad, tanto de hembras como de machos.
- Mejora el valor nutricional de los huevos para el consumo humano a través de la acumulación de ácidos grasos omega 3, DHA y EPA.

CERDOS:

- Rápido crecimiento, especialmente en cerdos recién destetados.
- Mejora la conversión del alimento.
- Disminuye reacción alérgica en cerdos recién destetados, comparados con otras proteínas que no se encuentran en la leche.
- Incrementa la resistencia a las enfermedades, especialmente en cerdos alimentados con dietas sin medicación.
- Incrementa la fertilidad.
- Incrementa la composición de la grasa en la carne; DHA y EPA depositado en la carne.

RUMIANTES:

- En los rumiantes, la harina de pescado proporciona proteína y grasa que están sujetas a menor cambio en el rumen, a diferencia de otras materias primas.
- La proteína degradada en el rumen mejora la digestión de la fibra. Como resultado se incrementa la productividad.
- Los ácidos grasos omega de cadena larga en la harina de pescado liberan parcialmente la hidrogenación en el rumen. Ellos contribuyen a la absorción de ácidos grasos.
- Aumento de la fertilidad, el desarrollo del embrión y del recién nacido así como la resistencia a las enfermedades.

VACAS LECHERAS:

- Mayor producción de leche, con un incremento promedio de 1 a 2 litros por día.
- Incrementa el contenido de la proteína en la leche, generalmente en 0.1 a 0.2% unidades.
- Altos niveles (1 kg o más) pueden disminuir la grasa de la leche, lo cual es importante para las personas que cuidan su salud.
- Fertilidad. Se incrementa especialmente la tasa de concepción, generalmente de 10 a 15 % unidades.

GANADO VACUNO:

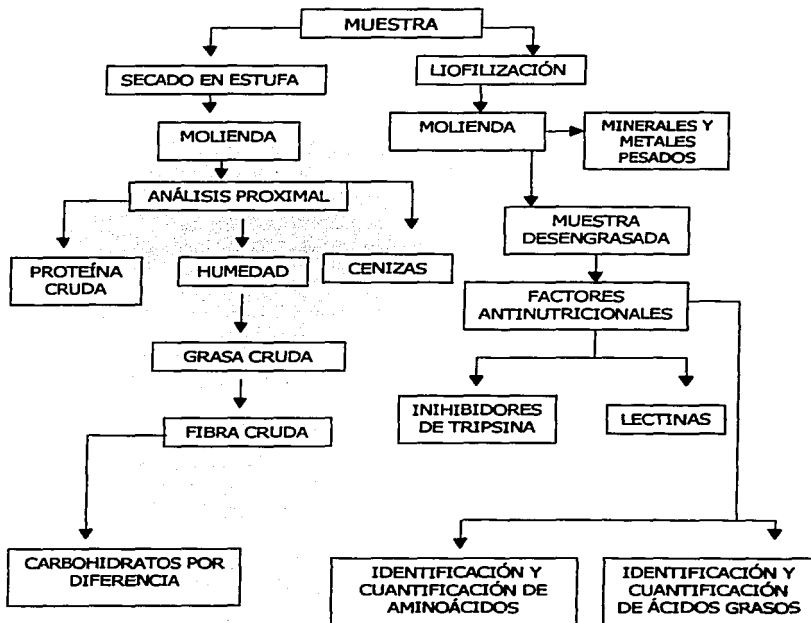
- Rápido crecimiento.
- Incrementa los niveles de ácidos grasos omega 3 (HDA +EPA) depositados en la carne.
- Mejor utilización de dietas de alto forraje.

OVINO:

- Mejora la fertilidad.
- Rápido crecimiento del ovino.
- Bajos niveles de ácidos grasos omega 3 (DHA+EPA).
- Mejor utilización de las dietas de alto forraje.
- Puede adelgazar a las ovejas con sobrepeso.⁵

4 PARTE EXPERIMENTAL

DIAGRAMA GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

MUESTRAS: Bagre, Sierra y Tilapia

PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS

Central de Abastos de Pescados y Mariscos, La Nueva Viga.

Dirección: Eje 6 Sur, Trabajadores Sociales, Iztapalapa, México, D.F.

Peso aproximado de las muestras:

Bagre: 381 g

Sierra: 743 g

Tilapia: 579 g

Las muestras se mantuvieron en refrigeración, empacadas en bolsas de plástico 24 horas antes del proceso de conservación.

DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

Conservación de la muestra

Secado

La muestra consistió en un pescado completo cortado en pedazos pequeños, esto fue para acelerar el proceso de secado y evitar la descomposición de la muestra. El secado se realizó en una estufa de corriente de aire (Lab – Line Imperial III Radiant Heat Oven Modelo 293 Hill Modelo 293 A) a 65°C de 24 a 48 horas aproximadamente.

Liofilización

Se realizó un congelamiento rápido de la muestra con nitrógeno líquido y posteriormente una liofilización (Liofilizadora Labconco Freeze Dryer Modelo 4.5) por aproximadamente 12 horas a temperatura no mayor a -50°C y a baja presión, aproximadamente 10 micrones de mercurio.¹²

Operación de reducción del tamaño de la muestra (Molienda)

Tanto las muestras secas por estufa de corriente de aire como las muestras liofilizadas, se les realizó una molienda en un molino Thomas Wiley Laboratory Hill Modelo 4, esto para facilitar las pruebas posteriores, la molienda se realizó con una malla de 1 mm, ya que por la naturaleza de la muestra fue imposible obtenerla más fina. Inmediatamente después de la molienda las muestras se colocaron en frascos de vidrio debidamente identificados, se

cerraron con tapa de rosca y se sellaron con parafilm, de esta manera se mantuvieron en refrigeración, temperatura aproximadamente de 5°C, hasta su utilización.

ANÁLISIS PROXIMAL

Para el análisis proximal se siguieron los métodos de la AOAC¹¹.

Determinación de humedad analítica

Fundamento

Es un método que involucran la determinación de la pérdida de peso debida a la evaporación de agua en el punto de ebullición o temperaturas cercana a él. La proporción de agua perdida aumenta al elevar la temperatura; por lo tanto, es importante comparar sólo los resultados obtenidos usando las mismas condiciones de secado, más aún, si es factible que ocurra alguna descomposición. A su vez la pérdida en peso depende de diversos factores como son: el tamaño de la partícula y el peso de la muestra, el tipo de cápsula de porcelana y las variaciones de temperatura entre una y otra charola del horno.

Material

- 3 charolas de aluminio
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Desecador de vidrio

Procedimiento

Las charolas de aluminio se colocaron en la estufa de vacío hasta que éstas alcanzaron un peso constante (aproximadamente 24 horas) el cual fue registrado. Posteriormente se pesaron aproximadamente 4 gramos de muestra, la cual había permanecido en refrigeración. Las charolas con la muestra se introdujeron en una estufa de vacío la cual mantuvo las siguientes condiciones: Presión no menor a 15 mm de Hg y una temperatura de 60-65°C y un tiempo de 96 horas.

Durante el tiempo en que las charolas con la muestra permanecieron en la estufa de vacío, se realizaron pesadas periódicas de las mismas; sacándolas de la estufa y colocándolas inmediatamente en un desecador donde permanecían aproximadamente 15 minutos; después cada charola con la muestra fue pesada en una balanza analítica.

Esta actividad se realizó hasta que se alcanzó peso constante el cual también fue registrado.

La determinación se hizo por triplicado.

Cálculos

Contenido de humedad = muestra húmeda – muestra seca

% de humedad = (contenido de humedad / peso muestra húmeda) x 100

Determinación de ceniza

Fundamento

La determinación de ceniza se basa en la destrucción de la materia orgánica contenida en una matriz alimentaria, considerándose a las cenizas como el residuo inorgánico que queda después de incinerar dicha materia orgánica en una mufia.

Material

- 3 crisoles de porcelana
- Desecador de vidrio
- Mechero bunsen
- Campana de extracción
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Mufia (Heraew Hanau)

Procedimiento

Los tres crisoles se colocaron en la mufia a una temperatura de 500°C, hasta alcanzar peso constante, el cual fue registrado.

En cada crisol a peso constante se colocaron aproximadamente 3 gramos de muestra.

El crisol con la muestra se colocó en la flama de un mechero con el fin de carbonizar la muestra hasta que se observó un mínimo desprendimiento de humo. Posteriormente los crisoles se introdujeron en la mufia, la cual mantenía una temperatura entre 500°C y 550°C.

Después de aproximadamente 12 horas los crisoles se sacaron de la mufla y fueron colocados en un desecador por aproximadamente 15 minutos y fueron pesados en la balanza analítica. Posteriormente se realizaron pesadas periódicas de los crisoles hasta que éstos alcanzaron peso constante, el cual también se registró.

La determinación se hizo por triplicado.

Cálculos

Cantidad de ceniza = peso crisol + ceniza – peso crisol

% de ceniza = (cantidad de ceniza / peso muestra) x 100

Determinación de grasa

Fundamento

Los constituyentes grasos de las materias orgánicas son diversas sustancias lipídicas. El contenido de grasa, es aquel que puede ser extraído por los disolventes menos polares como lo son el éter de petróleo y éter etílico. La determinación se basa en la extracción con una fracción ligera de petróleo o con éter etílico del material seco y molido en un aparato de extracción continua en el que las gotas condensadas del disolvente caen sobre la muestra contenida en un recipiente poroso o dedal, alrededor del cual pasan los vapores calientes del disolvente.

Material y reactivos

- Aparato de extracción Goldfish (Labconco Mod 35001-00CV)
- 3 vasos de borde esmerilado (Labconco 35051)
- 3 porta dedales de vidrio
- 3 anillos metálicos para extracción Goldfish
- 3 tubos recuperadores de disolvente
- 3 cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm
- Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Balanza analítica (Satorius analytic)
- Bomba de recirculación (Little Grant pump Mod. 1)
- Éter de petróleo

Procedimiento

Se colocaron los vasos esmerilados en la estufa de vacío hasta que éstos alcanzaron un peso constante el cual fue registrado.

En los cartuchos o dedales de celulosa se colocaron aproximadamente 3 g de harina seca, posteriormente los cartuchos se taparon con algodón introduciéndose a los porta dedales de vidrio y se colocaron en el compartimiento de extracción de Goldfish.

En los vasos esmerilados se colocaron aproximadamente 50 mL de éter de petróleo y fueron colocados con ayuda del anillo metálico en el aparato de extracción, el cual a su vez se conectó a una bomba de recirculación de agua helada.

Finalmente se subió la parrilla de calentamiento del equipo y se trabajó con el control de calentamiento en la posición LOW durante un periodo de 3 horas. Al término de éste tiempo se bajaron las parrillas de calentamiento y se sacaron los portadedales, sustituyéndose por el tubo recuperador de disolvente y se volvió a colocar nuevamente el vaso para iniciar de nuevo el calentamiento, cuando los vasos se encontraron libres de disolvente, fueron retirados del equipo y colocados durante unos minutos en una campana de extracción, para asegurar la completa remoción del disolvente. Los vasos fueron colocados en la estufa de vacío hasta alcanzar peso constante el cual se registró.

La determinación fue hecha por triplicado

Cálculos

Cantidad de grasa = peso vaso + grasa – peso vaso

% grasa = (Peso grasa / Peso muestra) x 100

Determinación de Fibra cruda

Fundamento

La fibra cruda es el residuo orgánico insoluble y comestible que queda después de tratar la muestra en las condiciones descritas a continuación. Las condiciones más comunes son tratamientos consecutivos, ebullición con ácido sulfúrico diluido, ebullición con hidróxido de sodio diluido, con ácido clorhídrico diluido, con alcohol y con éter, finalmente una posterior incineración del material insoluble, de tal modo que por diferencia es posible obtener el contenido de hidratos de carbono no degradables. Este tratamiento empírico proporciona la fibra cruda, que consiste principalmente en celulosa y cierta proporción de lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra original.

Material y reactivos

- 3 vasos de Berzelius de 600 mL (Kimax)
- Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Balanza analítica (Satorius analytic)
- Mufla (Heraew Hanau)
- Mechero bunsen
- Aparato de digestión (Labconco)
- 3 crisoles de porcelana
- 3 matraces de vidrio Kitasato (Kimax)
- 3 embudos buchner con alargadera
- Silicato de aluminio
- Filtro de lino
- Solución de H_2SO_4 al 1.25% (m/v)

- Solución de NaOH al 1.25% (m/v)
- Solución antiespumante
- Alcohol etílico

Procedimiento

La muestra desengrasada obtenida a partir de la determinación de grasa, se pasó cuantitativamente a los vasos de Berzelius que contenían aproximadamente 0.5 g de silicato de aluminio.

A continuación se le adicionaron 200 mL de H₂SO₄ al 1.25% (m/v), el cual estaba hirviendo, así como unas gotas de antiespumante.

Los vasos se colocaron inmediatamente en el aparato de digestión, el cual estaba previamente calentado, y se dejó digerir por un tiempo de 30 minutos exactos. Al término de éste tiempo se vació el contenido sobre un embudo californiano con filtro de lino y se filtró con ayuda de vacío, lavando el residuo con agua (destilada) caliente hasta que se eliminó el ácido.

Nuevamente el residuo fue transferido cuantitativamente al vaso Berzelius, y se adicionaron unas gotas de antiespumante y 200 mL de NaOH al 1.25% (m/v) hirviendo y se mantuvieron en el aparato de digestión por un tiempo de 30 minutos exactos. Transcurrido éste tiempo, se vació nuevamente al filtro de lino y se filtró lavando el residuo con agua caliente hasta que se logró la eliminación del álcali y finalmente se agregaron 25 mL de alcohol etílico.

El residuo se trasladó a un crisol de porcelana el cual previamente fue puesto a peso constante registrando éste valor. Se colocó en la estufa de vacío para su secado hasta que alcanzó peso constante (se registró el peso del crisol más residuo digerido).

A continuación se carbonizó el residuo con un mechero y se introdujo en la mufla para su incineración, los crisoles fueron pesados en diferentes periodos de tiempo hasta que éstos alcanzaron peso constante registrando el valor obtenido.

La determinación se hizo por triplicado.

Cálculos

% de fibra = $[(\text{Peso crisol con residuo después de secado} - \text{Peso crisol} + \text{cenizas}) / \text{peso muestra}] \times 100$

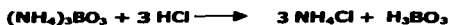
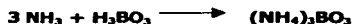
Determinación de Proteína cruda

Fundamento

Para la determinación de proteína, es comúnmente empleado el método Kjeldahl, que en realidad determina el nitrógeno total contenido en una matriz alimenticia. Este método se basa en la combustión en húmedo de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos y de otro tipo para reducir el nitrógeno orgánico de la muestra hasta nitrógeno inorgánico en forma de sulfato ácido de amonio. El nitrógeno se libera de la sal en forma de amoniaco con un alcali y se destila directamente o por arrastre con vapor para desprender el amoniaco, el cual es atrapado en una solución de ácido bórico y posteriormente titulado.

El factor para convertir el contenido de nitrógeno a proteína es usando el factor de 6.25 ya que, por lo general, las proteínas tienen 16% de nitrógeno.

Las reacciones antes descritas se muestra a continuación:



Material y reactivos

- Digestor (Tecator 20 – 40)
- Equipo de microdestilación (Kjeltec Auto analyzer Tecator Mod 1030)
- 4 tubos de digestión de 75 mL (Tecator)
- Mezcla digestiva (3 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 50 mL de H_3PO_4 y 430 mL de H_2SO_4 concentrado)
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Sulfato de potasio (reactivo analítico)
- Solución de NaOH al 60%
- Solución de ácido bórico con indicadores (ácido bórico 1%, rojo de metilo 0.0007% y 0.001% de verde de bromocresol)
- Solución de HCl 0.01 N valorada

Procedimiento

El contenido de proteína se determinó con el método 2.055 de AOAC 1989¹² con las siguientes modificaciones: 1) se colocaron aproximadamente 20 mg de la muestra seca y molida y se agregaron 0.5 g de K_2SO_4 y 3 mL de mezcla digestiva en los tubos de digestión y se colocaron en el digestor; 2) después de 15 minutos en el digestor a 340° C, se sacaron los tubos y se mantuvieron a temperatura ambiente 5-10 minutos. Se adicionaron 1.5 mL de H_2O_2 al 30% y se colocaron de nuevamente en el digestor a 370° C hasta que se logró transparencia en la mezcla y 3) se liberó el amoníaco y se realizó la destilación recibiendo en ácido bórico con indicadores, valorando con HCl 0.01 N. El objetivo de modificar la mezcla digestiva y utilizar peróxido de hidrógeno fue lograr la completa oxidación de la materia orgánica y reducir la pérdida de nitrógeno por formación

de aminas o nitrógeno libre, favoreciendo la formación de sulfato de amonio. Se realizó el mismo tratamiento con caseína (88.88% de proteína) para corregir el valor obtenido. Se utilizó como blanco dextrosa. Esta determinación se realizó con $n = 4$.
 $n =$ repeticiones realizadas en la determinación.

Cálculos

$$\% \text{ de nitrógeno} = [(M - Y) \times N \times \text{meq} \times 100] / m$$

$$\% \text{ de Proteína} = \% \text{ nitrógeno} \times F$$

Donde:

M : mL (titulación de la muestra)

Y: mL (titulación del blanco)

N: Normalidad de la solución de HCl

meq: miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m : peso de la muestra en gramos

F: factor de conversión de proteína que en el caso del residuo se empleó el valor de 6.25

Hidratos de Carbono

Los hidratos de carbono se determinaron por diferencia.

Cálculos

$$\text{HC} = 100 - (\% \text{ humedad} + \% \text{ cenizas} + \% \text{ grasa cruda} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ proteína})$$

DETERMINACIÓN DE MINERALES Y METALES PESADOS (Método PIXE)

El análisis fue realizado en el Instituto de Física de la UNAM gracias al apoyo del Dr. Javier Miranda quien amablemente efectuó los análisis en su equipo Peletron.

Fundamento¹³

El método PIXE (emisión de rayos X inducida por partículas), se basa en la ionización de las capas internas de un átomo blanco por la incidencia de un ión positivo y la subsecuente desexcitación del átomo por el decaimiento de un electrón desde la capa superior para cubrir la vacante, con la emisión de un fotón de rayos X para eliminar el exceso de energía en el átomo. La energía del fotón emitido es característica del elemento en cuestión, por lo cual es posible, mediante la medición de dicha energía, la identificación del elemento. La forma de producir los iones se logra a través de un acelerador conocido como Peletrón, el cual produce átomos de gran energía y funciona con un proceso de doble aceleración de los iones.

Material y equipo

- Pastilladora manual
- Acelerador Peletrón del Instituto de Física, UNAM.
- Haz de protones para emisión de Rayos X
- Detector de germanio de alta pureza ((LEGe) marca Canberra)
- Detector de silicio (marca Amptek)
- Amplificadores (Canberra Mod. 2026)

- Analizador multicanal (Oxford-Tennelec PCA3-Plus)
- Multiplexor (Oxford-Tennelec)
- Material de referencia certificado de sedimento lacustre (SL-1 Organismo Internacional de energía atómica)

Procedimiento

□ Preparación de la muestra

Se prepararon 4 pastillas de aproximadamente 0.5 g de muestra liofilizada y molido. Cuidando que se tuviera una buena compactación para evitar la ruptura de las pastillas.

□ Análisis mediante la técnica de Emisión de rayos X inducida por partículas PIXE

Las cuatro pastillas fueron analizadas mediante la técnica de PIXE bajo las siguientes condiciones:

Se utilizó el sistema de haz a la atmósfera del acelerador Peletrón¹⁴, el cual tenía una ventana de aluminio de 8 μm de espesor.

Los rayos X emitidos por las muestras por la irradiación con un haz de protones (con una energía de 3.3 MeV al salir del acelerador y 3 MeV al alcanzar la muestra), fueron captados con un detector de germanio de alta pureza y un detector de silicio marca Amptek.

Las señales electrónicas producidas por ambos detectores fueron procesadas con amplificadores Canberra y los espectros resultantes se colectaron en un analizador Multicanal junto con un Multiplexon. El diámetro del haz de protones fue de 2 mm sobre el blanco. El ángulo de incidencia del haz fue de 0° con la normal al blanco, y el ángulo de detección fue de 47° con respecto a la normal.

El material de referencia SL-1 se usó para determinar la eficiencia el detector.

El análisis de PIXE ofreció información sobre los elementos más pesados que Na, presentes en las muestras.

Los espectros de rayos X obtenidos con PIXE se analizaron con los programas QXAS¹⁵ y PIXEINT.¹⁶

IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FACTORES TÓXICOS Y ANTINUTRICIONALES

Determinación de inhibidores de tripsina¹⁷

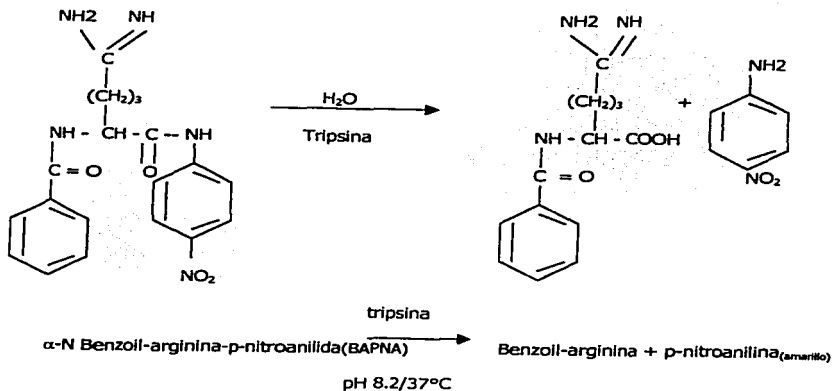
Fundamento

Se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso de la muestra sobre una solución estándar de tripsina.

El extracto se pone en contacto con una solución estandarizada de tripsina y después de cierto tiempo se determina la actividad proteolítica remanente, por medio de un sustrato sintético (BAPNA), el cual producirá coloración, al ser hidrolizado por la enzima, la cual se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm, donde la coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de la muestra.

La actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibida (U.T.I), donde una unidad de tripsina se define arbitrariamente como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm.

La reacción antes mencionada es la siguiente:



Material y reactivos

- Potenciómetro (Corning Mod. 10)
- Parrilla con agitación magnética (Thermoline Mod. SP-13025)
- Baño de agua a 37°C (Grant Mod. 67530)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Tubos de ensayo
- Solución de NaOH 0.1 N
- Solución de ácido acético al 30 %

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

- Solución amortiguadora TRIS pH 8.2 y 0.05M (3.025 g de hidroximetil-amino-metano y 2.94 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se disolvieron en 450 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 8.2 y se aforó a un volumen de 500mL)
- Solución BAPNA (100 mg de benzoi-DL-arginina-p-nitroanilida-HCl se disolvieron en 2.5 mL de dimetil-sulfóxido y se diluyen a 250 mL con amortiguador TRIS el cual se calentó previamente a 37°C) esta solución se preparó el mismo día de la determinación.
- Solución estándar de tripsina 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (se pesaron 4 mg exactos de tripsina bovina –SIGMA T-8253) y se disolvieron en 200 mL de HCl 0.001 N.

Procedimiento

□ Preparación del extracto

Se pesó aproximadamente 1 g de la muestra liofilizada y molida en un vaso de precipitados y se adicionaron 45 mL de NaOH 0.01 N, posteriormente se ajustó el pH a 9.6 ± 0.2 y se aforó con NaOH 0.01N a 50 mL, se introdujo un magneto en el vaso y se colocó en agitación por un periodo de 2 horas y media a 300 r.p.m.

Transcurrido el tiempo se quitó el magneto del vaso y se dejó reposar el extracto por 30 minutos y posteriormente por decantación se obtuvo el extracto eliminándose el residuo insoluble.

o Determinación de la actividad del extracto

Se introdujeron dentro de un tubo de ensayo 0, 0.6, 1, 1.4 y 1.8 mL del extracto obtenido y se ajustó cada tubo a un volumen final de 2 mL con agua destilada. Los tubos se introdujeron en el baño de agua a 37°C y se adicionaron 2 mL de solución estándar de tripsina a 37°C y se mantuvieron así por 10 minutos exactos. Después se adicionaron 5mL de BAPNA a 37°C a cada tubo, se mantuvieron así por 10 minutos exactos a 37°C, finalmente se detuvo la reacción con adición de 1 mL de ácido acético al 30% y se homogeneizó. (Ver anexo figura 1)

Los tubos de reacción después de un tiempo de reposo de 15 minutos se filtraron a través de papel filtro Whatman # 1 ya que presentaban ligero enturbiamiento.

De cada tubo se realizó la lectura de transmitancia en el espectrofotómetro (ajustado a 100% de transmitancia con el tubo que contenía 0 mL del extracto) a una longitud de onda 410 nm.

La técnica fue ensayada previamente con un extracto de soya.

Se realizaron 3 extractos de inhibidores de tripsina.

Cálculos

El valor de transmitancia fue convertido a un valor de absorbancia la cual se multiplicó por 100, para convertir a unidades de tripsina inhibidas (UTI); se restó a cada valor obtenido el valor de la referencia que es el tubo al cual no se le agregó extracto. Después se dividió cada valor entre la cantidad de extracto empleada de tal modo que se tienen U TI/mL. A

continuación se relacionó el volumen de extracto con UTI/mL con un modelo de regresión lineal.

Se graficó la actividad enzimática inhibida como una función de la alicuota del extracto de prueba, se observa una correlación lineal negativa, de donde se obtuvo el valor extrapolado, correspondiente al valor 0 de la solución inhibitoria.

El dato extrapolado, es el valor más cercano a la actividad inhibitoria.

UTI/mg muestra = ordenada al origen regresión lineal x (volumen extracto/mg muestra)

Determinación de hemaglutininas (prueba semicuantitativa)¹⁸**Fundamento**

La detección de hemaglutininas o lectinas se basa en la observación de la aglutinación de glóbulos rojos provocada por un extracto de lectinas proveniente de una muestra. La técnica incluye diluciones seriadas del extracto, en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la aglutinación de los glóbulos rojos los cuales son lavados y activados con una solución de proteasa (pronasa), lo cual aumenta la sensibilidad de la aglutinación.

Material y reactivos

- Parrilla con agitación magnética (Thermoline Mod. SP-13025)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Centrífuga para tubos (DYNAC)
- Tubos graduados de 15 mL para centrífuga
- Incubadora a 37°C (Blue-M)
- Adaptador para celdas de 10 x 75 mm (acondicionado a una abertura de 1 cm²)
- Kit de Microtitulación (Microtiter Kit Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Placas tipo "V" para microtitulación
- Dispositivo con espejo para la lectura de las placas de microtitulación.
- Papel Whatman de filtración rápida
- Matraces aforados de 20 mL
- Solución de pronasa 0.2% en solución salina
- Solución salina al 1% (m/v)

- Solución salina al 0.9% (m/v)
- Solución anticoagulante (heparina)
- Sangre de hámster (aproximadamente 50 gotas)

Procedimiento

□ Preparación del extracto

Se pesó 1 g de muestra liofilizada, desengrasada y molida posteriormente se suspendió en 10 mL de solución salina al 1%.

La suspensión se sometió a agitación mecánica durante 2 horas a 300 r.p.m. a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo de agitación, el extracto se centrifugó durante 15 minutos con el fin de eliminar el residuo insoluble. El sobrenadante fue filtrado a través del papel filtro sobre un matraz aforado, llevando el extracto a un volumen final de 10 mL con solución salina al 1%.

Se realizaron 3 extractos de cada muestra.

□ **Preparación del paquete de eritrocitos**

Lavado de eritrocitos

Se obtuvieron aproximadamente 50 gotas de sangre de hámster, las cuales fueron colocadas en un matraz de 25 mL que contenía heparina, posteriormente se diluyó la sangre con solución salina al 0.9% en una relación 1:5 v/v (sangre:solución salina), la sangre fue distribuida en 4 tubos graduados para centrifuga y se sometieron a centrifugación a 1500 r.p.m. durante 10 minutos, al término de éste tiempo se separó el sobrenadante y se volvieron a diluir los eritrocitos con la misma relación antes mencionada para volver a centrifugar bajo las mismas condiciones.

Esta operación se repitió 3 veces hasta que la solución salina (sobrenadante) fuera incolora.

Se eliminó el sobrenadante y el paquete de eritrocitos se diluyó a una concentración de 4% de eritrocitos, para lo cual se agregaron por cada 1 mL de eritrocitos 24 mL de solución salina al 0.9%

□ **Sensibilización de eritrocitos**

A la solución al 4% de eritrocitos, se agregó por cada 10 mL de solución, 1 mL de solución de pronasa al 0.2% en solución salina, fueron colocados en una incubadora durante 1 hora a 37°C y al término de éste tiempo la solución de eritrocitos se distribuyó nuevamente en tubos graduados para centrifuga y se centrifugaron a 1500 r.p.m. durante 10 minutos con el fin de eliminar la pronasa. Finalmente se sometieron los eritrocitos a 3

lavados con solución salina al 0.9% de la misma manera antes mencionada en el lavado de la sangre.

Después del último lavado el paquete de eritrocitos fue llevado a una suspensión al 4% con solución salina al 0.9%, para lo cual se consideró que por cada 1 mL de eritrocitos se agregaron 24 mL de solución salina.

□ **Ajuste de la suspensión de eritrocitos**

Se tomaron 0.1 mL de la suspensión de eritrocitos y se agregaron 4.9 mL de solución salina en una celda de vidrio, midiéndose en seguida el valor de transmitancia en el espectrofotómetro a 620 nm utilizando un adaptador de celdas que permitiera el paso de 1 cm² de luz. (el espectrofotómetro fue ajustado a 100% de transmitancia utilizando como blanco solución salina al 0.9%). La lectura apreciada fue de 24.3% de transmitancia, considerándose adecuada para la determinación. (Los valores que se deben de obtener son de 25% ± 1).

□ **Microtitulación**

En las placas tipo "V" se colocaron, en cada pozo de cada hilera 50 µL de solución salina al 0.9% con un pipetero de gota (es necesario evitar tocar las paredes de los pozos).

Posteriormente se llenó el microdilutor con 50µL del extracto y se procedió a realizar 24 diluciones sucesivas en forma de culebra (ocupando 2 hileras), después se llenó el microdilutor con 50 µL del extracto de referencia y se realizaron 12 diluciones sucesivas (ocupando 1 h"era).

Finalmente en cada pozo se colocaron 50 μ L de la suspensión de eritrocitos sensibilizada y ajustada. Las placas se rotaron en forma circular y se introdujeron a la incubadora a 37°C por 1 hora.

□ **Lectura de las placas**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se colocó la placa en el dispositivo de lectura y se reportó la máxima dilución que presentó aglutinación.

DETERMINACIONES EMPLEADAS PARA LA EVALUACIÓN NUTRICIONAL**Determinación del perfil de ácidos grasos^{20,21,22}****Fundamento**

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos después de un proceso de saponificación, son separados y determinados en un cromatógrafo de gases, donde son separados como consecuencia del reparto entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida contenida en una columna.

Material y reactivos

- Cromatógrafo de gases (Perkin Elmer Auto System Gas Chromatograph, Integrador PE Nelson Model 1022)
- Columna para la separación cromatográfica (Alltech Capillary Column 30x0.32 mm ID x 0.25 μm . ATTM – SILAR Serie no. 1303512H)
- Gases: Helio, Hidrógeno, Aire de alta pureza (99.997%)
- Baño a 80°C (POLYSTAT Instrument Company Mod. 12002)
- Tubos de vidrio con tapón de rosca de teflón (Kimax)
- Pipetas graduadas de 2 y 4 mL
- Matraces aforados de 5 mL
- Jeringa de 10 μL para inyección en el cromatógrafo (Hamilton)
- Vórtex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Pipetas pasteur
- Solución de KOH al 5% en metanol
- Solución de HCl al 10% en metanol

- Estándar de ácidos grasos SIGMA (Esteres metílicos de palmitato C16, estearato C18, oleato C18:1, linoleato C18:3, araquidato C20:0)
- Mezcla de disolventes Tolueno:Hexano (80:20) (se colocaron 80 mL de tolueno en una probeta de 100 mL y se completó este volumen con hexano).

Nota: Todo el material de vidrio se lavó perfectamente con agua destilada y posteriormente se lavó primero con tolueno seguido de acetona después metanol y finalmente acetona, (en ese orden) antes de ser utilizado. Todos estos reactivos fueron de grado analítico.

Procedimiento

□ Esterificación de los ácidos grasos

En un tubo con tapón de rosca, se pesaron aproximadamente 35 mg de aceite extraído a partir del residuo liofilizado, la extracción se llevó a cabo con éter de petróleo en un equipo de extracción Goldfish (Labconco Mod 35001-00CV).

Al tubo con muestra se adicionaron 2 mL de KOH al 5% en metanol y se colocaron en un baño a 80°C por 1 hora.

Al término de éste tiempo el tubo se dejó enfriar y se agregaron 2 mL de HCl al 10% en metanol y 100 μ L de BF₃ y se volvió a introducir en el baño a 80°C por 1 hora.

Posteriormente se dejó enfriar y se agregaron 4 mL de agua y 2 mL de mezcla Tolueno:Hexano (80:20), se agitó en un vórtex por espacio de 1 minuto y se separó la

fase orgánica, a ésta se vuelven a agregar nuevamente 4 mL de agua y 2 mL de mezcla tolueno:Hexano (80:20) y se separa la fase orgánica.

Finalmente dicha fase se llevó a un volumen final de 5 mL, de ésta solución se tomó 1 μ L y se inyectó en el cromatógrafo de gases.

□ **Inyección de la muestra**

Se encendió el cromatógrafo de gases junto con el integrador, posteriormente se abrió la válvula principal del gas acarreador (helio) y gases de combustión (hidrógeno y aire) y se ajustó la presión de salida de estos a las siguientes condiciones:

80 psi para el helio

30 psi para el hidrógeno

40 psi para el aire seco

Se utilizó un programa de temperatura que dio las condiciones físicas adecuadas para la obtención del análisis de composición de los ácidos grasos, estas condiciones fueron las siguientes:

Temperatura inicial del horno: 50°C

Temperatura inicial del detector: 300°C

Temperatura inicial del inyector: 250°C

Presión de gas (flujo): 10 psi

Finalmente se inyectó 1 μ L de la muestra previamente esterificada y se llevó a cabo el análisis.

La esterificación se llevó a cabo por triplicado, y de cada muestra esterificada se realizó una inyección. (ver anexo figura 7)

Cálculos

Se calculó el porcentaje de cada ácido graso de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ del ácido graso} = \frac{\text{Área ácido graso}}{\sum \text{Área ácidos grasos}} \times 100$$

Determinación del perfil de aminoácidos²³

Fundamento

La cuantificación de aminoácidos se ha llevado a cabo tradicionalmente utilizando resinas de intercambio iónico, previa hidrólisis de la proteína. Los métodos basados en HPLC (high performance liquid chromatography) han permitido que éstos se impongan dada su mayor rapidez y sensibilidad²⁴. Debido a la polaridad de los aminoácidos y a la ausencia de un cromóforo en la mayoría de ellos, la formación de un derivado antes del análisis por HPLC en fase reversa es necesaria²⁵. Se ha reportado que los derivados formados con 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil-carbamato son estables y permiten incrementar la precisión del análisis rutinario de aminoácidos por derivatización pre columna, dada la menor manipulación de la muestra durante la preparación de los derivados de los aminoácidos liberados después de haber hidrolizado la proteína.^{24,25,26} La cuantificación de aminoácidos en alimentos sigue a una etapa de hidrólisis, en la cuantificación por intercambio iónico, el alimento se hidroliza a 145°C durante 4 horas, sin que se reporten mermas significativas en los rendimientos de los aminoácidos. La hidrólisis ácida en fase de vapor (HCl 6 N, 0.1% de fenol), es una adaptación que ha permitido incrementar el rendimiento del proceso de hidrólisis, pues las pérdidas por oxidación de aminoácidos se reducen gracias a la combinación de nitrógeno y vacío durante la preparación de las muestras a hidrolizar, el contacto de HCl gaseoso con la muestra y un control eficiente de temperatura y tiempo de hidrólisis (145°C por 4 horas)^{23,27}. Entonces al combinar la derivatización con 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil-carbamato, la cuantificación por HPLC y la hidrólisis de material proteínico con HCl 6 N, 0.1% de fenol, en fase de vapor, a 145°C por cuatro horas, es posible llevar a cabo la cuantificación de aminoácidos con buena selectividad y precisión.

Material y Reactivos**Hidrólisis**

- Estación de trabajo Pico Tag (Waters)
- Viales de reacción de la estación de trabajo Pico Tag
- Bomba de alto vacío RV8 (Edwards)
- Refrigerante tipo dedo frío
- Tubos de ensayo de 4 x 50 mm (Corning)
- Marcador de tinta permanente Esterbrook de Berol
- Micro pipeta (y puntas) con capacidad de 200-1000 μ L (Finnpipette)
- Vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Agua destilada y desionizada (agua purificada de 18 Mohm de resistividad o agua destilada y desionizada pasada por un filtro de 0.22 μ m)
- Hielo seco
- Metanol (Q.P)
- Nitrógeno de alta pureza (99.997%) (Infra)
- HCl 6 N, 0.1% de fenol

Preparación de la muestra

- Micro pipeta (y puntas) con capacidad 50-200 μ L (Finnpipette)
- Pipeta Pasteur (3)
- Vórtex (Lab-line instruments. Mod. 1290)
- Matraz aforado de 1 mL (3)
- Jeringas de 10 mL (9)
- Acrodisco de nylon, 0.22 μ m de tamaño de poro y 13 mm de diámetro (Gelman)
- Tubos de ensayo de 10 x 70 mm (Pirex) (9)
- Norleucina 5 mM-HCl 10 mM (disolución de norleucina (c.b.p. 5 mM) en HCl 0.1M suficiente para obtener 10 mM al final)
- Acetonitrilo:Agua 20:80 (200 mL de acetonitrilo grado HPLC, más 800 mL de agua purificada)
- Acetonitrilo grado HPLC (JT-Baker)
- Agua destilada y desionizada (mismas condiciones que en hidrólisis).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Derivatización

- Tubos de ensayo de 4 x 50 mm (Corning) (3)
- Parrilla de calentamiento (Stirrer/Hot Plate Corning) con baño de agua a 55° C
- Micro pipeta (y puntas) con capacidad 5-50 μL , (Finnpipette)
- Micro pipeta (y puntas) con capacidad 50-200 μL , (Finnpipette)
- Micro pipeta (y puntas) con capacidad 100-1000 μL , (Finnpipette)
- Vórtex (Lab-line instruments mod. 1290)
- Parafilm
- Estándar de aminoácidos H 2.5 mM, excepto Cistina: 1.25 mM, Pierce
- Acetonitrilo (AccQ Fluor reagent diluent, vial 2B), 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato (AccQ Fluor reagent, vial 2A) y Buffer de boratos (AccQ Fluor Borate Buffer, reactivo 1), (Waters AccQ Fluor Reagent kit)

Análisis cromatográfico

- Sistema de entrega de disolventes (2), (Waters mod. 510)
- Inyector con loop de 20 μL (Rheodyne)
- Jeringa para HPLC 25 μL (Hamilton)
- Detector UV-Vis Waters 486 (Waters)
- Horno y unidad de control de temperatura modelo III (Waters)
- Controlador automático de gradiente modelo 680 (Waters)
- Adquisición e integración de datos Chromjet modelo 54076 (Waters)
- Sistema de filtración a vacío (2) (Millipore)
- Filtro de tamaño de poro 0.45 μm tipo HA (Millipore)
- Filtro de tamaño de poro 0.22 μm tipo GV (Millipore)
- Filtro pre columna en línea (Waters)
- Columna AccQ-Tag Nova Pak C₁₈, tamaño de partícula 4 μm , de 3.9 mm x 150 mm, (Waters)
- AccQ Tag concentrado A (buffer acuoso de acetatos y fosfatos) (Waters)
- Acetonitrilo grado HPLC (JT Baker)
- Agua destilada y desionizada (mismas condiciones que en hidrólisis).

Procedimiento

□ **Preparación de la estación de trabajo.**

Se preparó la estación de trabajo picotag (Ver Anexo Figura 4); se depositó hielo seco en el recipiente del refrigerante tipo dedo frío y metanol suficiente para cubrir el hielo seco que se había depositado. Además se verificó que los controles de vacío y de Nitrógeno se encontraran cerrados. Se encendió la bomba de vacío y después de cinco minutos se verificó que la lectura del manómetro de la estación de trabajo fuera de 50-70 milITorr.

□ **Preparación de la muestra: secado.**

Se pesaron, por triplicado, 10 mg de muestra seca y desengrasada en el interior de un tubo de 4 x 50 mm, previamente marcado con marcador de tinta permanente. Se agregó una gota de agua (aproximadamente 50 μ L) y se agitó durante algunos segundos en el vórtex, con la finalidad de hidratar por completo la muestra y distribuirla en las paredes del tubo para mejorar su exposición a los vapores de HCl. Los tres tubos se depositaron en el interior del vial de reacción. (Ver Anexo Figura 3)

Se colocó la tapa y se deslizó el botón rojo a la posición abierto (los viales de reacción deben estar secos, para lo cual se introdujeron en la estación de trabajo vacíos y en la posición abierto, tras lo cual se abrió la válvula de vacío y se dejaron así hasta que alcanzaron una presión de 50-70 milITorr). El vial se colocó en la estación de trabajo, se abrió la válvula de nitrógeno durante 10-15 segundos, la presión de salida del nitrógeno

no debió exceder 0.3 kg/cm^2 , después se abrió lentamente la válvula de vacío hasta alcanzar una presión de 1-2 Torr.

Se abrió y cerró la válvula de nitrógeno para controlar la espuma y ebullición de la mezcla para evitar pérdidas por proyección del material al exterior del tubo. Una vez que desapareció la espuma, se cerró la válvula de nitrógeno y se mantuvo abierta la del vacío hasta secar las muestras (cuando la presión fue de 50-70 millTorr). Se cerró la válvula de vacío y se retiró el vial de la estación de trabajo.

□ **Preparación de las muestras: purga con nitrógeno.**

Se agregaron $200 \mu\text{L}$ de HCl 6 N con 0.1 % de fenol en el fondo del vial de reacción, cuidando no introducir ácido al interior de los tubos con muestra. Para purgar el vial de hidrólisis, se cerró el vial y se introdujo nuevamente en la estación de trabajo picotag, se abrió lentamente el vacío hasta alcanzar 1-2 Torr de presión, y se mantuvo abierto hasta que empezó la ebullición del ácido clorhídrico; se cerró el vacío y se purgó el vial con nitrógeno durante 5 segundos; se cerró el nitrógeno y se repitió éste ciclo dos veces más.

Al finalizar el tercer ciclo, se abrió el vacío del mismo modo y se mantuvo hasta que alcanzó una presión ligeramente menor a 1 Torr. Se cerró el vial deslizando el botón verde a la posición cerrado, se cerró el vacío y se sacó el vial de reacción de la estación de trabajo.

□ **Hidrólisis en fase de vapor.**

Una vez finalizada la preparación, se introdujo el vial al horno de la estación de trabajo, previamente calentado a 145° C (colocando el botón oven en la posición de encendido y ajustando la temperatura con la perilla Temp al mismo tiempo que se mantiene hacia arriba el botón set), durante 4 horas.

□ **Eliminación del exceso de HCl.**

Transcurrido el tiempo, se sacó el vial del horno, se dejó enfriar a temperatura ambiente y dentro de una campana de extracción, se deslizó el botón rojo a la posición abierto para dejar escapar el ácido y los vapores que se generaron durante el proceso; después se abrió el vial de reacción y se sacaron los tubos con los hidrolizados, se enjuagó el exterior de cada uno con agua y se depositaron en un vial de reacción seco. Después, se procedió a eliminar el exceso de ácido del interior de cada uno de los tubos con ayuda de vacío; se tapó el vial asegurando que se encontrara en la posición abierto, se introdujo en la estación de trabajo picotag y se abrió el vacío hasta que alcanzó 1-2 Torr, y se mantuvo abierto hasta que la lectura del manómetro de la estación de trabajo fue de 50-70 miliTorr. Se cerró el vial, así como el vacío y se conservaron los hidrolizados en una atmósfera inerte por aproximadamente 12 horas.

o Cuantificación de aminoácidos por HPLC de fase reversa**PASO 1. Preparación de las muestras: re-hidratación del hidrolizado.**

A cada uno de los tubos con hidrolizado se agregaron 100 μL de norleucina 5 mM - HCl 10 mM, el primero como estándar interno y el ácido clorhídrico para rehidratar y extraer los aminoácidos del tubo de hidrólisis. Se agitó un minuto en vórtex y se dejó reposar un minuto para después agregar de 100 a 200 μL de acetonitrilo 20%, se agitó un minuto más en vórtex y se transfirió cuantitativamente a un matraz volumétrico de 5 mL con ayuda de una pipeta pasteur, se lavó con acetonitrilo al 20% y se agitó hasta que la solución de lavado fue incolora (volumen menor a 5 mL), se transfirió cuantitativamente el contenido de cada paso de lavado al matraz volumétrico de 5 mL y se llevó al aforo con agua purificada (concentración final de norleucina: 0.5 mM).

Se filtró la muestra a través de un acrodisco de nylon de 0.2 μm de tamaño de poro, conectado en la punta de otra jeringa, desechándose las primeras 3-5 gotas y recuperando el resto, del cuál fue tomada la alícuota para derivatizar los aminoácidos.

PASO 2. Derivatización de aminoácidos

En un tubo de ensayo de 4 x 50 mm, se depositaron 10 μL del estándar de aminoácidos o de la muestra purificada y filtrada, evitando que la punta de la pipeta tocara las paredes del tubo; se agregaron 70 μL del buffer de boratos, se agitó el tubo en un vórtex por 10 segundos y finalmente se agregaron 20 μL del reactivo de derivatización AQC (3mg/5mL, de CH_3CN) se agitó en el vórtex durante un minuto (tiempo durante el cual se llevó a cabo

la reacción y se hidrolizó el exceso de AQC), se cubrió con parafilm la boca del tubo y se introdujo en el baño de agua a 55° C durante 10 minutos para completar la formación del monoderivado de tirosina. Se dejó enfriar.

□ Análisis cromatográfico

Finalmente se inyectaron 5µL de la muestra derivatizada en el cromatógrafo de líquidos con un tiempo de corrida de 50 minutos. (Ver Anexo Figura 2)

El gradiente de elusión fue el siguiente:

| Tiempo (min) | % fase A | % fase B | Flujo (mL/min) |
|--------------|----------|----------|----------------|
| Inicio | 100 | 0 | 1 |
| 0.5 | 98 | 2 | 1 |
| 15 | 93 | 7 | 1 |
| 19 | 90 | 10 | 1 |
| 32 | 67 | 33 | 1 |
| 35 | 67 | 33 | 1 |
| 36 | 0 | 100 | 1 |
| 41 | 0 | 100 | 1 |
| 42 | 100 | 0 | 1 |
| 43 | 100 | 0 | 1.2 |
| 64 | 100 | 0 | 1.2 |
| 65 | 100 | 0 | 1 |
| 66 | 0 | 100 | 1 |
| 100 | 0 | 100 | 1 |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cálculos

Se calcula el contenido de cada uno de los 17 aminoácidos comparando la relación Área aminoácido/Área norleucina de la muestra contra la relación Área aminoácido/Área norleucina del estándar de aminoácidos, de acuerdo a la ecuación 1, para reportar el contenido en g aminoácido/16 g N.

Cálculo del contenido de aminoácidos en g/16 g de N

$$1.6 \times [(Aaa/An-leu) mtra \times (A n-leu/Aaa) std \times Cstd \times a \times P. M.] / [mgmtra \times \% N]$$

donde:

Aaa = área del aminoácido dado

An-leu = área de norleucina

mtra = en la muestra

std = en el estándar

Cstd = concentración del aminoácido dado en el estándar

a = aforo del hidrolizado

P.M. = peso molecular del aminoácido dado

mgmtra = cantidad de muestra en mg

%N = porcentaje de nitrógeno en la muestra seca desengrasada

Fundamento

Debido a la destrucción del triptofano por hidrólisis ácida, la determinación consiste en una hidrólisis alcalina de la proteína mediante el uso de hidróxido de litio. En términos generales podemos decir que con los métodos químicos, espectrofotométricos y microbiológicos, la cuantificación del triptofano en proteínas puras o péptidos es llevada a cabo con relativa facilidad; sin embargo cuando esto se quiere aplicar a materiales biológicos complejos como son los productos alimenticios, se presenta una gran variedad de problemas como son coloraciones indeseables, poca solubilidad y compuestos indólicos que interfieren, entre otros. La hidrólisis enzimática se convierte en una alternativa viable para la determinación de este aminoácido esencial. El método consiste en la hidrólisis enzimática dada por la pepsina durante 3 horas y posteriormente con pancreatina durante 24 horas, el hidrolizado al reaccionar con p-dimetilaminobenzaldehído (DMAB) y nitrito de sodio como reactivo de contraste da lugar a la formación de un compuesto colorimétrico el cual permite cuantificar espectrofotométricamente la cantidad de triptofano en una muestra a 590 nm de longitud de onda.

Material y reactivos

- 3 matraz aforado de 50 mL (Kimax)
- Pipetas con capacidad de 10, 7.5, 0.5, 2 mL
- Tubos de ensaye (Kimax)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner mod. 340)
- Celdas de vidrio para el espectrofotómetro
- Campana de extracción
- Balanza analítica (Sartorius analytic)
- Vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Potenciometro (Corning Mod. 10)
- Digestor marca TECATOR mod. Ab 20/40
- Hidróxido de Litio 4N
- Buffer de fosfatos pH 8 (Solución A: Se pesaron 2.78 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y se aforaron a 100 mL. Solución B: Se pesaron 26.82 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y se aforaron a 500 mL. Se tomaron 5.3 mL de la solución A y 94.7 mL de la solución B y se llevaron a 200 mL con agua destilada. Se ajustó el pH a un valor de 8.0)
- Solución de DMAB 0.5% (p/v) (se pesaron 0.5 g de DMAB se disolvieron y posteriormente aforaron hasta 100 mL con HCl concentrado)
- Solución de nitrito de sodio 0.4 % (p/v) (se pesaron 200 mg de nitrito de sodio y se aforaron a 100 mL con agua)
- Solución estándar de triptofano (0.05 mg/mL) (se pesaron 5 mg exactos de triptofano y se aforaron a 100 mL con agua destilada)

Procedimiento**□ Preparación del hidrólizado**

Se pesaron entre 11 a 16 mg de harina liofilizada y desengrasada, se adicionó con precaución el volumen adecuado de LiOH 4N dependiendo del contenido de proteína de la muestra (5.5 mL aproximadamente) cuidando que la muestra se humedeciera completamente con el reactivo ayudándose con el agitador Vortex, posteriormente se insufló nitrógeno de alta pureza y se cerraron los tubos con el tapón de rosca y cubierta de teflón. La hidrólisis se realizó a 145°C durante 4 horas.

Una vez transcurrido el tiempo de hidrólisis se dejaron enfriar los tubos y se transvasó cuantitativamente su contenido a un vaso de precipitado, dándole algunas lavadas al tubo con agua caliente. Al hidrolizado obtenido se le ajustó el pH a 6.8 ± 0.2 con ácido ortofosfórico.

Con el fin de eliminar el precipitado formado, se realizó una filtración con ayuda de vacío sobre papel Whatman 542 dándosele 3 lavadas con agua caliente con el fin de lavar perfectamente el residuo.

El filtrado se aforó a 25 mL con agua destilada. Del filtrado se tomó una alícuota de 2 mL y se colocó dentro de un tubo de ensayo, a éste se le agregaron 7.5 mL de DMAB y se agitó dejando en reposo durante 15 minutos en la oscuridad, después de éste tiempo se agregaron 0.5 mL de nitrito de sodio y se dejó en reposo por 15 minutos más. Posteriormente se tomó lectura de absorbancia a 590 nm.

Al mismo tiempo se realizó un blanco de la muestra en el cual se toman 2 mL del extracto pero se substituyó la cantidad de DMAB por 7.5 mL de HCl concentrado.

Cabe mencionar que la curva patrón se trabajó al mismo tiempo que las muestras.

Nota: Se realizaron 3 hidrolizados y de cada uno se hizo un blanco y se tomaron 2 alícuotas de 2 mL para desarrollar color.

□ **Preparación de la curva patrón**

Se tomaron 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 y 2 mL de la solución estándar de triptofano y se depositaron en tubos de ensayo, cada tubo se llevó a un volumen final de 2 mL con agua destilada y se adicionaron 7.5 mL de DMAB se agitaron y se dejaron en la oscuridad por 15 minutos, posteriormente se agregaron 0.5 mL de nitrito de sodio, se agitaron y se dejaron en reposo por 15 minutos más, al término de éste tiempo se tomó la lectura de absorbancia a 590 nm. Finalmente se construyó una curva patrón que relacionara los mg de triptofano con la absorbancia. (Ver anexo figura 5)

Nota: Cada punto de la curva se hizo por duplicado.

Cálculos

Al valor de absorbancia de la muestra se le restó el valor de absorbancia del blanco, y posteriormente se convirtió a g de triptofano con la curva patrón realizada.

$$g \text{ trp}/16gN = (g\text{trp}/2mL\text{hidrolizado} \times 25 \text{ mLaforo}) (1/g\text{muestra}) (1/g\text{proteína en el residuo}) \times 100$$

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición proximal

En las tablas 2, 3, y 4 se muestran los resultados del análisis proximal, es decir, proteína, grasa cruda, cenizas, hidratos de carbono y fibra cruda, en base húmeda y en base seca de las tres especies analizadas, Bagre, Tilapia y Sierra, respectivamente. Los resultados se expresan en g por 100g de pescado entero en todos los casos.

TABLA 2. Análisis proximal del pescado entero Bagre^a

| Análisis Proximal | BASE HÚMEDA (g/100g) | BASE SECA (g/100g) |
|--|-----------------------------|---------------------------|
| Humedad | 67.13 ± 0.02 | ----- |
| Proteína | 19.50 ± 0.36 | 59.32 ± 1.12 |
| Grasa Cruda | 7.69 ± 0.08 | 23.39 ± 0.25 |
| Cenizas | 5.55 ± 0.10 | 16.89 ± 0.30 |
| Fibra Cruda | 0.10 ± 0.01 | 0.37 ± 0.21 |
| Hidratos de carbono^b | 0.0 | 0.0 |

- a. Resultados expresados en g/100g de muestra ± desviación estándar, determinaciones realizadas por triplicado y en todos los casos se obtuvo un % de coeficiente de variación menor al 5%.
- b. Se calcularon por diferencia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 3. Análisis proximal del pescado entero Sierra^a

| Análisis Proximal | BASE HÚMEDA (g/100g) | BASE SECA (g/100g) |
|----------------------------------|----------------------|--------------------|
| Humedad | 74.74 ± 0.02 | ----- |
| Proteína | 19.12 ± 0.43 | 75.70 ± 1.69 |
| Grasa | 3.76 ± 0.14 | 14.89 ± 0.56 |
| Cenizas | 2.46 ± 0.02 | 9.76 ± 0.09 |
| Fibra Cruda | 0.005 ± 0.01 | 0.01 ± 0.03 |
| Hidratos de carbono ^b | 0.0 | 0.0 |

- a. Resultados expresados en g/100g de muestra ± desviación estándar, determinaciones realizadas por triplicado y en todos los casos se obtuvo un % de coeficiente de variación menor al 5%.
- b. Se calcularon por diferencia

TABLA 4. Análisis proximal del pescado entero Tilapia^a

| Análisis Proximal | BASE HÚMEDA (g/100g) | BASE SECA (g/100g) |
|----------------------------------|----------------------|--------------------|
| Humedad | 71.48 ± 0.01 | ---- |
| Proteína | 13.57 ± 0.06 | 47.58 ± 0.20 |
| Grasa | 8.92 ± 0.09 | 31.27 ± 0.30 |
| Cenizas | 3.49 ± 0.02 | 12.24 ± 0.30 |
| Fibra Cruda | 2.13 ± 0.04 | 7.47 ± 0.39 |
| Hidratos de carbono ^b | 0.40 | 1.42 |

- a. Resultados expresados en g/100g de muestra ± desviación estándar, determinaciones realizadas por triplicado y en todos los casos se obtuvo un % de coeficiente de variación menor al 5%.
- b. Se calcularon por diferencia

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

La especie Sierra presenta mayor porcentaje de agua en comparación con las otras dos especies, es importante mencionar que la especie Sierra proviene de agua salada a diferencia de las especies Bagre y Tilapia.

Debido a que las muestras contienen una gran cantidad de humedad, los resultados que se obtuvieron a partir del análisis proximal se refirieron en base seca.

Los resultados se analizan en base seca por dos razones principalmente, la primera es realizar una comparación más específica entre las tres especies analizadas, y la segunda se refiere a la forma en que el alimento sería comercializado. Un contenido alto de humedad disminuye la facilidad de manejo del producto así como su vida de anaquel, debido al ataque microbiano o enzimático que se favorece en un medio rico en agua.¹⁹ Por otro lado la eliminación del agua tiene como consecuencia un aumento en la concentración de los demás componentes de importancia nutrimental, por lo que se obtiene un alimento más completo.

La humedad que se presenta en las tablas 2, 3 y 4, corresponde a la humedad gruesa más la humedad analítica. La humedad gruesa se obtiene a partir de la conservación de la muestra, donde se coloca en una estufa de corriente de aire, y la humedad analítica corresponde a la humedad de la harina obtenida después de la molienda. Por lo tanto la humedad que se muestra es la humedad total de los pescados analizados.

El contenido de proteína en un alimento para animal es muy importante ya que es el nutrimento que se encuentra en mayor proporción en órganos y tejidos musculares (con excepción del agua)³¹. Los tres pescados enteros analizados contienen un alto contenido de proteína. El pescado que presenta mayor porcentaje de proteína es el Sierra (75.70), el cual proviene de agua salada. Los pescados Bagre (59.35) y Tilapia (47.58) son de agua dulce y presentan menor cantidad de proteína, sin embargo en los tres casos el contenido de proteína es importante.

El contenido de proteína de los cereales oscila entre 6 al 16%³², tomando en cuenta que gran parte de los alimentos para animales se elaboran con dicho alimento, la harina obtenida a partir de pescado puede representar una fuente rica de proteína, si se mezclara con los alimentos que comúnmente se les da a los animales.

El alto contenido de proteínas en la harina de pescado no garantiza que sea de buena calidad por lo que más adelante se evaluará el contenido de aminoácidos en cada pescado (ver tablas 11, 12, 13).

Los lípidos (grasas) son importantes como fuente de energía, vehículo de vitaminas liposolubles, y como fuente de algunos ácidos grasos vitales para la mayoría de las especies animales.³¹ Los pescados analizados de agua dulce Bagre (23.39) y Tilapia (31.27) contienen mayor cantidad de grasa, que el pescado de origen marino Sierra (14.89), como análisis posterior se analizará la composición de la grasa, con el fin de conocer si existe diferencia en la calidad de la grasa entre las muestras (ver tabla 10).

La concentración de grasa en las muestras es relativamente alta, por lo que la harina de pescado puede ser una fuente importante de este nutrimento.

El contenido de cenizas es alto en las tres especies de pescado, este resultado era de esperarse ya que la muestra se está analizando con huesos, piel, escamas (en el caso del Bagre y de la Tilapia) y demás órganos. La cantidad de cenizas obtenidas puede representar un alto contenido de minerales indispensables lo cual significa que la harina de pescado puede ser una fuente rica en minerales o por el contrario contener metales pesados tóxicos, para comprobarlo se realizó un análisis elemental de minerales y metales pesados (Ver tablas 5, 6, 7).

Los pescados de agua dulce Bagre (16.89) y Tilapia (12.24) presentaron mayor cantidad de cenizas que el pescado marino Sierra (9.75), esto se debe fundamentalmente a que los primeros presentan escamas.

Los hidratos de carbono son el ingrediente mayoritario en las raciones para animales de cría. La función primaria de los hidratos de carbono en los animales es como fuente de energía³¹. En las tres especies de pescado analizadas la presencia de hidratos de carbono es nula, por lo que para su uso en la alimentación animal se recomendaría complementaria con algún alimento rico en hidratos de carbono, como podría ser un tubérculo como la papa o un cereal como la avena.

Al igual que los hidratos de carbono el contenido de fibra cruda en los pescados es nula, en el caso de los rumiantes esta carencia puede ser relevante, sin embargo en animales monogástricos la falta de fibra en el alimento no es de suma importancia.

Las ventajas de utilización de harina de pescado en alimentos para animales son las siguientes; rápido crecimiento, menor frecuencia de enfermedades, cambia la composición de grasas en carne con incorporación de bajos niveles de ácidos grasos omega 3 de cadena larga, se mejora la conversión del alimento, en el caso de las vacas, mayor producción de leche, mejora la fertilidad¹⁰.

DETERMINACIÓN DE MINERALES

En la tabla 5 se presentan los resultados del análisis elemental de minerales de importancia nutricional de las tres especies de pescado liofilizado. En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos en el análisis elemental de metales pesados; aquellos que representan un peligro al ser consumidos debido a su toxicidad dentro del organismo. Por último, en la tabla 7, se muestran otros elementos encontrados en las muestras analizadas.

Tabla 5. Concentración elemental de los minerales determinados en los pescados enteros.

| ELEMENTO | SÍMBOLO QUÍMICO | BAGRE | SIERRA | TILAPIA |
|--------------------------|-----------------|-------|----------------|-------------------|
| Sodio^a | Na | 2.5 | 0.58 | 0.85 ^c |
| Fósforo | P | 0.78 | 0.82 | 0.61 |
| Azufre | S | 0.62 | 0.63 | 0.40 |
| Potasio | K | 0.24 | 0.23 | 0.16 |
| Calcio | Ca | 1600 | 1500 | 2100 |
| Cromo | Cr | 1 | 0 ^b | 0 |
| Manganeso | Mn | 1 | 0 | 0 |
| Hierro | Fe | 6 | 19 | 4 |
| Cobre | Cu | 9 | 8 | 7 |
| Silicio | Si | 1.0 | 0.94 | 0.76 |
| Cloro | Cl | 0.19 | 0.18 | 0.12 |
| Zinc | Zn | 15 | 5 | 5 |

- Contenido promedio de 4 muestras. Los elementos C, N, O, Na, Si, P, Cl y K se tabulan como porcentaje en masa. El resto de los elementos se presentan en mg/kg.
- El valor 0 significa que el elemento estuvo por debajo de los límites de detección.
- Las incertidumbres son del 12% para K y Ca; 15% para Na, P, S, Cl, Ti, Fe, Cu, y Zn; 20% para Cr, Mn.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Concentración elemental de los metales pesados determinados en los pescados enteros analizados.

| ELEMENTO | SÍMBOLO QUÍMICO | BAGRE | SIERRA | TILAPIA* |
|----------|-----------------|-----------------|--------|----------------|
| Aluminio | Al ^a | 1.2 | 1.1 | 0.80 |
| Titanio | Ti | 5 | 1 | 1 |
| Vanadio | V | 2 | 1 | 1 |
| Arsénico | As | 1 | 1 | 0 ^c |
| Níquel | Ni | ND ^b | ND | ND |
| Plomo | Pb | ND | ND | ND |
| Mercurio | Hg | ND | ND | ND |

- Contenido promedio de 4 muestras. Los elementos se presentan en mg/kg.
- El elemento no fue detectado.
- El valor 0 significa que el elemento estuvo por debajo de los límites de detección.
- Las incertidumbres son del 15% para Al, Ti, ; 20% para V, As.

Tabla 7. Concentración elemental de otros elementos obtenidos durante el análisis de las muestras de pescado entero.

| ELEMENTO | SÍMBOLO QUÍMICO | BAGRE | SIERRA | TILAPIA |
|----------------------|-----------------|-------|--------|---------|
| Carbono ^a | C | 73 | 74 | 78 |
| Nitrógeno | N | 13 | 13 | 12 |
| Oxígeno | O | 7.2 | 7.2 | 5.9 |
| Bromo | Br | 1 | 1 | 14 |
| Estroncio | Sr | 6 | 2 | 3 |

- Contenido promedio de 4 muestras. Los elementos C, N, y O, se tabulan como porcentaje en masa. El resto de los elementos se presentan en mg/kg.

Por lo menos algunas especies animales requieren un mínimo de 21 elementos minerales y de otros cinco que puede ser básicos desde el punto de vista metabólico. Los elementos necesarios que se requieren en mayor proporción son calcio, fósforo, sodio, cloro, potasio, magnesio y azufre, aquellos que solo se necesitan o se encuentran en cantidades trazas son cobalto, yodo, zinc, hierro, cobre, manganeso, selenio, cromo, flúor, molibdeno y silito³².

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El contenido de minerales en las tres especies de pescado estudiadas es parecido. El mineral indispensable que se encuentra en mayor proporción es el calcio en los tres casos (la especie que presenta mayor contenido de calcio es la Tilapia), este resultado era de esperarse por la presencia de hueso y espinas en la muestra, ya que el calcio es uno de los principales componentes del esqueleto³². Por lo tanto, la harina de pescado entero es una rica fuente de calcio.

Los pescados analizados contienen hierro el cual es un elemento de gran importancia ya que su carencia ha sido un problema importante en la producción animal,³² su deficiencia produce anemia. El pescado con mayor cantidad de hierro, en este análisis, es el Sierra. El contenido de hierro se debe a la presencia principalmente de hemoglobina, en las muestras.

Los siguientes minerales; magnesio, yodo, selenio y cobalto, no fueron registrados por el método Pixe, sin embargo, estos se pueden encontrar en cereales y otros alimentos de origen vegetal que podrían añadirse a la harina y de esta manera se evitarían enfermedades.

El magnesio es un mineral de suma importancia para crecimiento de los animales, se ha encontrado que su deficiencia produce anorexia, por lo que se recomendaría suplementar la harina de pescado con un alimento rico en este mineral.

Las concentraciones de cromo y manganeso presentes en las especies Sierra y Tilapia son demasiado pequeñas por lo que no pudieron ser detectadas por la técnica utilizada, sin

embargo estos dos minerales se requieren en cantidades trazas por lo que no se considera que la harina obtenida a partir de estas dos especies sea deficiente respecto a estos dos minerales.

El plomo al igual que el mercurio son considerados los metales pesados de mayor riesgo³³, al no ser detectados en el análisis elemental de la muestra los pescados no representan un riesgo al ser consumidos debido a este factor.

Además de los elementos mencionados anteriormente, se encontraron otros elementos (ver tabla 7), bromo y estroncio, que posiblemente no influyen de manera drástica en el desarrollo y funcionamiento del organismo pero tampoco se ha reportado daño por su consumo, por lo que su presencia en la harina no representa un inconveniente.

Las harinas de pescado Bagre, Sierra y Tilapia son fuentes importantes de minerales, sus niveles no rebasan los niveles máximos de tolerancia de minerales dietarios en animales domésticos (ver anexo figura 6).

FACTORES ANTINUTRICIONALES

En las tablas 8 y 9 se muestran los resultados de inhibidores de tripsina y hemaglutininas en la harina de pescado liofilizada y desengrasada. Estas pruebas se realizaron con el fin de conocer si la harina de pescado cruda representaba un riesgo al ser utilizada en la elaboración de alimentos balanceados.

Tabla 8. INHIBIDORES DE TRIPSINA*

| ESPECIE | BAGRE | SIERRA | TILAPIA |
|---|-------|--------|---------|
| INHIBIDORES UTI**/mg muestra | 0.06 | 0.15 | 1.68 |

* Se realizaron dos extractos y de estos se realizó la prueba por duplicado

** UTI = Unidades de tripsina inhibida

Tabla 9. HEMAGLUTININAS*

| ESPECIE | BAGRE | SIERRA | TILAPIA |
|-----------------------|-------|----------|---------|
| | | TÍTULO** | |
| HEMAGLUTININAS | - | - | 2 |

* Se realizaron dos extractos de cada muestra y la prueba se realizó por duplicado

** Máxima dilución en la que se presentó aglutinación en eritrocitos de hamster.

Las muestras analizadas contienen una cantidad muy baja de inhibidores de tripsina por lo que su consumo en forma de harina cruda no representa un riesgo para la salud. Para que exista riesgo en un alimento, este debe de contener más de 10 UTI/mg de muestra³⁴.

El contenido de hemaglutininas fue negativo en las muestras Bagre y Sierra, en cambio en el pescado Tilapia se encontró un título de 2, sin embargo este resultado no representa un

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

riesgo para el consumo de la harina en crudo, ya que se requiere de un título igual o mayor a 10 para causar un daño en el organismo³⁴.

Los resultados que se muestran son los que se esperaban pues la presencia de factores antinutricionales, por lo general no se encuentran en alimentos de origen animal, más bien son bastante comunes en alimentos de origen vegetal.

Por los resultados obtenidos se puede decir que las muestras de pescado entero no presentan factores antinutricionales que pudieran causar alguna deficiencia en el organismo al ser consumidas.

ÁCIDOS GRASOS

En la tabla 10 se muestra el contenido de ácidos grasos (%) que se encuentran en la porción lipídica obtenido por cromatografía de gases de las tres especies de pescado entero analizado, Bagre, Sierra y Tilapia.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla 10. Contenido de ácidos grasos presentes en el extracto etéreo de las muestras

| Ácido graso ¹ | Bagre | Sierra | Titapia |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Mirístico | 4.45 ± 0.54 | NP | 3.91 ± 0.30 |
| NI | NP | NP | 0.18 ± 0.02 |
| Miristoleico | NP | 2.5 ± 0.11 | 0.12 ± 0.02 |
| Pentadecanoico | 1.69 ± 0.2 | 2.56 ± 0.11 | 0.24 ± 0 |
| Cis-10-pentadecenoico | NP | NP | 0.21 ± 0.05 |
| Palmitico | 31.32 ± 5.71 | 37.04 ± 0.88 | 24.77 ± 3.34 |
| NI | 0.53 ± 0.06 | 0.43 ± 0.06 | NP |
| Palmitoleico | 6.68 ± 0.75 | 13.72 ± 0.35 | 4.02 ± 1.1 |
| NI | 0.57 ± 0.12 | 0.55 ± 0.02 | 1.12 ± 0.01 |
| NI | NP | 0.33 ± 0.05 | 0.21 ± 0.02 |
| NI | NP | 0.41 ± 0.01 | NP |
| NI | NP | 1.69 ± 0.13 | NP |
| Heptadecanoico | 1.6 ± 0.16 | 2.25 ± 0.08 | 0.57 ± 0.07 |
| Cis-10-heptadecenoico | 1.13 ± 0.1 | NP | NP |
| Esteárico | 12.64 ± 1.25 | 7.66 ± 0.26 | 6.00 ± 0.39 |
| NI | NP | 1.18 ± 0.04 | NP |
| Oléico | 28.36 ± 2.7 | 23.27 ± 0.31 | 26.07 ± 5.59 |
| Linolelaídico | NP | 0.87 ± 0.29 | NP |
| NI | NP | NP | 0.32 ± 0.09 |
| NI | NP | NP | 0.45 ± 0.05 |
| Linoléico | 1.2 ± 0.11 | NP | 15.84 ± 1.05 |
| NI | NP | NP | 1.02 ± 0.13 |
| Araquidico | 0.73 ± 0.1 | NP | 1.41 ± 0.11 |
| Gama-Linolénico | NP | 0.42 ± 0.02 | 0.23 ± 0.02 |
| NI | NP | NP | 0.53 ± 0.14 |
| Cis-11-Eicosenoico | 1.32 ± 0.12 | NP | 2.03 ± 0.06 |
| Linoléico | 1.13 ± 0.12 | 1.01 ± 0.12 | 0.49 ± 0.07 |
| NI | NP | 1.35 ± 0.17 | NP |
| Cis-11-eicosanoico | 1.32 ± 0.12 | 1.88 ± 0.18 | NP |
| Lignocérico | 1.39 ± 0.12 | NP | NP |
| Cis-11,14,17-eicosatrienoico | 1.13 ± 0.25 | 0.84 ± 0.2 | NP |
| Cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico | 1.19 ± 0.03 | NP | NP |
| Cis-4,7,10,13,16,19-docosaheptaenoico | 2.69 ± 0.21 | NP | NP |
| NI | NP | NP | 1.11 ± 0.04 |
| NI | NP | NP | 1.20 ± 0.19 |
| Henicosanoico | NP | NP | 0.85 ± 0.13 |
| Behénico | NP | NP | 0.28 ± 0.07 |
| Erucico | NP | NP | 0.38 ± 0.02 |
| NI | NP | NP | 0.34 ± 0.09 |
| NI | NP | NP | 0.62 ± 0.08 |
| Gama-Linolénico | NP | NP | 0.87 ± 0.05 |
| Araquidónico | NP | NP | 0.93 ± 0.06 |
| NI | NP | NP | 0.66 ± 0.05 |
| NI | NP | NP | 1.96 ± 0.11 |
| Nervónico | NP | NP | 2.90 ± 0.11 |
| NI | NP | NP | 0.48 ± 0.14 |

1 Por ciento ± desviación estándar de cada ácido graso obtenido al compararse con un estándar. n = 3 donde n es el número de repeticiones. NP = no presente en la muestra

Los ácidos grasos linoléico y linolénico se requieren en la dieta de especies monogástricas. Un tercer ácido graso, ácido araquidónico, puede ser sintetizado a partir del ácido linolénico pero se requiere cuando la ingesta del ácido linolénico es baja. La deficiencia de ácidos grasos indispensables ha sido demostrada en cerdos, gallinas, perros y vacas. En general, la deficiencia de los ácidos grasos indispensables resultan en un crecimiento lento en todas las especies³⁰.

Los ácidos grasos que tienen en común las tres especies de pescado analizadas son los siguientes; miristoléico, pentadecanoico, palmítico, palmitoléico, heptadecanoico, esteárico, oléico, y linolénico.

Los ácidos grasos que se encuentran en mayor proporción en el pescado Bagre son el palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), palmitoléico (C16:1) y oléico (C18:1). Los dos primeros son ácidos grasos saturados y los dos últimos son ácidos grasos insaturados. Tanto los ácidos grasos saturados como los insaturados son importantes para la nutrición, pero el consumo de ácidos grasos insaturados disminuye las enfermedades cardiovasculares, por lo que su contenido en alimentos es importante. En el caso del pescado Bagre contiene una cantidad considerable de ácidos grasos insaturados.

El pescado Bagre contiene los ácidos grasos indispensables linoléico (C18:2) y linolénico (C18:3) por lo que puede considerarse una buena fuente de ácidos grasos para la alimentación animal.

El pescado Sierra tiene en mayor proporción los siguientes ácidos grasos; palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0) y oléico (C18:1). Al igual que el pescado Bagre contiene una cantidad de ácidos grasos insaturados considerable.

A diferencia del pescado Bagre, el pescado Sierra solo contiene un ácido graso indispensable que corresponde al ácido linoléico (C18:3), del cual puede ser sintetizado el ácido araquidónico (C20:4) que es de importancia nutrimental, por ser precursor de un grupo de hormonas llamado prostaglandinas.³⁵

El pescado Tilapia fue el que mayor cantidad de ácidos grasos presentó en su composición. Los ácidos grasos que se encuentran en mayor proporción son; palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1) y linoléico (C18:3), por lo que contiene gran cantidad de ácidos insaturados.

La especie Tilapia fue la única que presentó el ácido graso araquidónico (C20:4) aunque fue en una proporción muy pequeña. Otra diferencia importante en comparación con las otras dos especies es que esta última contiene ácido erúico (C22:1 n-9), este ácido graso es tóxico en una concentración mayor del 2%, por lo que en este caso no se considera un riesgo ya que su concentración en la grasa es de 0.38%.

Los ácidos grasos indispensables si se encontraron presentes en el pescado Tilapia al igual que en el pescado Bagre, por lo que estas especies son de mejor calidad respecto a los ácidos grasos. Sin embargo, en todos se detectaron algunos ácidos grasos no identificados que posiblemente tienen importancia nutrimental.

AMINOÁCIDOS

En las tablas 11, 12 y 13 se muestran los contenidos de aminoácidos en las muestras de pescado entero liofilizado y desengrasado, se obtuvieron por HPLC con excepción del triptofano el cual se determinó por hidrólisis alcalina y por un método colorimétrico.

Tabla 11. Contenido de aminoácidos en el pescado Bagre entero.

| AMINOACIDO | g/16g N | % de aminoácido en la proteína ^b | g aminoácido /100 g de pescado |
|-------------------------------|---------------------------|--|-----------------------------------|
| Aspártico | 12.22 ± 3.76 ^a | 8.143 | 1.52139 |
| Serina | 2.29 ± 0.37 | 1.526 | 0.29 |
| Glutámico | 29.01 ± 2.69 | 19.332 | 3.61 |
| Glicina | 16.98 ± 1.72 | 11.315 | 2.11 |
| Histidina | 4.50 ± 1.45 | 2.999 | 0.56 |
| Arginina | 12.51 ± 0.86 | 8.337 | 1.56 |
| Treonina | 6.17 ± 1.78 | 4.112 | 0.77 |
| Alanina | 12.84 ± 1.31 | 8.557 | 1.60 |
| Prolina | 8.66 ± 0.43 | 5.771 | 1.08 |
| Cistina ^d | 0 | 0.000 | 0.00 |
| Tirosina | 2.25 ± 0.28 | 1.499 | 0.28 |
| Valina | 7.16 ± 0.47 | 4.771 | 0.89 |
| Metionina | 2.90 ± 0.29 | 1.933 | 0.36 |
| Lisina | 12.12 ± 0.77 | 8.077 | 1.51 |
| Isoleucina | 5.81 ± 0.39 | 3.872 | 0.72 |
| Leucina | 9.81 ± 0.46 | 6.537 | 1.22 |
| Fenilalanina | 4.39 ± 0.62 | 2.925 | 0.55 |
| Triptofano^c | 0.44 ± 0.02 | 0.293 | 0.05 |
| TOTAL | 150.06 | | |

a. Se muestra el contenido de cada aminoácido promedio (g/16g N) ± desviación estándar con coeficiente de variación menor a 15%

b. Proporción de aminoácidos respecto al total de los mismos en el pescado (aa g/16g N/total aa) *100

c. Obtenido por hidrólisis alcalina

Nota: aminoácidos indispensables en negritas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. Contenido de aminoácidos en el pescado entero Sierra

| AMINOÁCIDO* | g/16g N | % de aminoácido en la proteína | g aminoácido /100 g de pescado |
|----------------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Aspártico | 16.39 ± 3.49 | 8.545 | 2.33 |
| Serina | 3.10 ± 0.39 | 1.616 | 0.44 |
| Glutámico | 42.57 ± 7.37 | 22.195 | 6.05 |
| Glicina | 13.71 ± 2.39 | 7.148 | 1.95 |
| Histidina | 5.03 ± 0.68 | 2.623 | 0.72 |
| Arginina | 14.67 ± 2.04 | 7.649 | 2.09 |
| Treonina | 7.19 ± 0.96 | 3.749 | 1.02 |
| Alanina | 15.75 ± 2.26 | 8.212 | 2.24 |
| Prolina | 7.82 ± 1.10 | 4.077 | 1.11 |
| Cistina ^d | 0.44 ± 0.02 | 0.229 | 0.06 |
| Tirosina | 3.70 ± 0.40 | 1.929 | 0.53 |
| Valina | 9.28 ± 1.31 | 4.838 | 1.32 |
| Metionina | 4.54 ± 0.39 | 2.367 | 0.65 |
| Lisina | 18.63 ± 2.86 | 9.713 | 2.65 |
| Isoleucina | 8.52 ± 1.09 | 4.442 | 1.21 |
| Leucina | 13.92 ± 0.96 | 7.258 | 1.98 |
| Fenilalanina | 5.90 ± 0.96 | 3.076 | 0.84 |
| Triptofano | 0.64 ± 0.04 | 0.334 | 0.09 |
| TOTAL | 191.8 | | |

- a. Se muestra el contenido de cada aminoácido promedio (g/16g N) ± desviación estándar con coeficiente de variación menor a 15%
 b. Proporción de aminoácidos respecto al total de los mismos en el pescado (aa g/16g N/total aa) *100
 c. Obtenido por hidrólisis alcalina

Nota: aminoácidos indispensables en negritas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 13. Contenido de aminoácidos en pescado entero Tilapia.

| AMINOACIDO* | g/16g N | % de aminoácido en la proteína | g aminoácido /100 g de pescado |
|----------------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Aspártico | 16.02 ± 1.85 | 6.735 | 1.57 |
| Serina | 4.02 ± 1.25 | 1.690 | 0.40 |
| Glutámico | 42.31 ± 6.65 | 17.787 | 4.16 |
| Glicina | 27.93 ± 5.75 | 11.742 | 2.75 |
| Histidina | 7.03 ± 1.40 | 2.955 | 0.69 |
| Arginina | 22.45 ± 1.87 | 9.438 | 2.21 |
| Treonina | 9.95 ± 1.24 | 4.183 | 0.98 |
| Alanina | 18.98 ± 2.73 | 7.979 | 1.87 |
| Prolina | 14.10 ± 2.12 | 5.928 | 1.39 |
| Cistina ^d | 0 | 0.000 | 0.00 |
| Tirosina | 5.53 ± 1.03 | 2.325 | 0.54 |
| Valina | 10.86 ± 0.90 | 4.566 | 1.07 |
| Metionina | 6.34 ± 0.57 | 2.665 | 0.62 |
| Lisina | 16.52 ± 3.34 | 6.945 | 1.62 |
| Isoleucina | 9.71 ± 0.49 | 4.082 | 0.95 |
| Leucina | 16.33 ± 0.93 | 6.865 | 1.61 |
| Fenilalanina | 9.07 ± 1.70 | 3.813 | 0.89 |
| Triptofano | 0.72 ± 0.08 | 0.303 | 0.07 |
| TOTAL | 237.87 | | |

- a. Se muestra el contenido de cada aminoácido promedio (g/16g N) ± desviación estándar con coeficiente de variación menor a 15%
- b. Proporción de aminoácidos respecto al total de los mismos en el pescado (aa g/16g N/total aa) *100
- c. Obtenido por hidrólisis alcalina

Nota: aminoácidos indispensables en negritas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CALIFICACIÓN QUÍMICA

A partir de los resultados de aminoácidos de las tres especies de pescado analizadas se calculó la calificación química para evaluar la calidad de la proteína en cada una de ellas.

Tabla 14. Calificación química de la proteína contenida en el pescado entero Bagre.

| Aminoácido | Contenido de | Contenido de | Calificación |
|-------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|
| Indispensable | aminoácido en el | aminoácido en el | Química ² |
| | pescado (g/16g N) | patrón ¹ | |
| Isoleucina | 5.8165 | 4.00 | > 100 |
| Leucina | 9.8195 | 7.04 | > 100 |
| Lisina | 12.1236 | 5.44 | > 100 |
| Azufrados ³ | 2.9045 | 4.72 | 44 |
| Aromáticos ⁴ | 6.6576 | 6.08 | 79 |
| Treonina | 6.1739 | 4.00 | > 100 |
| Valina | 7.1626 | 4.96 | > 100 |
| Triptofano | 0.4428 | 1.00 | 32 |

Calificación Química: 32

- 1 Patrón establecido (FAO, 1973)³⁶
- 2 Se calculó de la siguiente manera: $((aa_{muestra}/total\ aa_{muestra}) / [aa_{patrón}/total\ aa_{patrón}]) * 100$
- 3 Metionina + Cistina
- 4 Tirosina + Fenilalanina

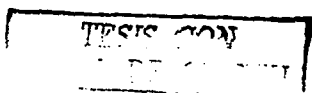


Tabla 15. Calificación química de la proteína contenida en el pescado entero Sierra.

| Aminoácido Indispensable | Contenido de aminoácido en el pescado (g/16g N) | Contenido de aminoácido en el patrón ¹ | Calificación Química ² |
|-----------------------------|---|---|--------------------------------------|
| Isoleucina | 8.5233 | 4.00 | > 100 |
| Leucina | 13.9282 | 7.04 | > 100 |
| Lisina | 18.6302 | 5.44 | >100 |
| Azufrados ³ | 4.9982 | 4.72 | 54 |
| Aromáticos ⁴ | 9.6136 | 6.08 | 80 |
| Treonina | 7.1983 | 4.00 | 92 |
| Valina | 9.2853 | 4.96 | 95 |
| Triptofano | 0.6429 | 1.00 | 32 |

Calificación química: 32

1 Patrón establecido (FAO, 1973)³⁶2 Se calculó de la siguiente manera: $\left(\frac{aa_{muestra}}{total\ aa_{muestra}}\right) / \left(\frac{aa_{patrón}}{total\ aa_{patrón}}\right) * 100$

3 Metionina + Cistina

4 Tirosina + Fenilalanina

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 16. Calificación química del pescado entero Tilapia

| Aminoácido Indispensable | Contenido de aminoácido en el pescado (g/16g N) | Contenido de aminoácido en el patrón ¹ | Calificación Química ² |
|-----------------------------|---|---|--------------------------------------|
| Isoleucina | 9.7122 | 4.00 | > 100 |
| Leucina | 16.3352 | 7.04 | > 100 |
| Lisina | 16.5224 | 5.44 | > 100 |
| Azufrados ³ | 6.3497 | 4.72 | 58 |
| Aromáticos ⁴ | 14.6148 | 6.08 | > 100 |
| Treonina | 9.9545 | 4.00 | > 100 |
| Valina | 10.8629 | 4.96 | 95 |
| Triptofano | 0.7251 | 1.00 | 31 |

Calificación química: 31

- 1 Patrón establecido (FAO, 1973)³⁶
- 2 Se calculó de la siguiente manera: $\left(\frac{aa_{muestra}/total\ aa_{muestra}}{aa_{patrón}/total\ aa_{patrón}}\right) * 100$
- 3 Metionina + Cistina
- 4 Tirosina + Fenilalanina

Las especies Bagre y Tilapia presentaron los aminoácidos presentes en el estándar, con excepción de la cistina la cual es degradada por la técnica descrita, sin embargo en la especie Sierra se pudo cuantificar parte de la cistina presente en la muestra.

En casi todos los casos el pescado Tilapia presenta los contenidos más altos de aminoácidos, por el contrario la especie Bagre presenta los valores más bajos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los aminoácidos indispensables en mayor cantidad en las muestras son; lisina y leucina.

Las harinas de pescado contienen todos los aminoácidos indispensables aunque algunos en mayor proporción que otros, esto hace que la muestra sea un buen alimento para animales si se suplementa adecuadamente con otro alimento.

Para evaluar la calidad real de la proteína se calculó la calificación química para cada especie (ver tablas 14, 15, 16) encontrándose una calificación de 30 para las tres especies, el aminoácido en menor proporción es el triptofano, por lo que sería necesario enriquecer la harina con otros alimentos que lo tuvieran, como podría ser harina de avena.

Los aminoácidos azufrados también se encuentran en poca cantidad, por lo que sería recomendable suplementar la harina de pescado con un cereal para aumentar la proporción de metionina.

6 CONCLUSIONES

- ✓ Los pescados analizados en forma completa tienen una composición química alta en proteína.
- ✓ El pescado de agua salada (Sierra) contiene mayor porcentaje de proteína y menor contenido de grasa.
- ✓ El contenido de cenizas es alto en cualquiera de las tres especies de pescado analizados.
- ✓ La harina de pescado entero es rica en casi todos los minerales indispensables.
- ✓ La harina de pescado no presentó metales pesados dañinos para el metabolismo.
- ✓ Las muestras no contienen inhibidores de tripsina ni hemaglutininas por lo que no representan problemas para su consumo en crudo.
- ✓ La grasa de las especies Bagre y Tilapia contienen los ácidos grasos indispensables.
- ✓ Las tres especies de pescados contienen gran cantidad de ácidos grasos insaturados.
- ✓ La grasa analizada del pescado Tilapia contiene ácido erúico en pequeñas cantidades por lo que no representa riesgo en su consumo.
- ✓ Los aminoácidos indispensables están presentes en las tres especies analizadas.
- ✓ La calificación química para las tres especies es de 30, el aminoácido deficiente es el triptófano.
- ✓ La harina de pescado puede ser utilizada en la industria alimentaria como suplemento en la elaboración de alimentos para animales.
- ✓ El uso de harina de pescado completo disminuye desperdicios que en la mayoría de los casos son una fuente importante de nutrimentos.

7 BIBLIOGRAFÍA

- 1 Lalanne, R. La Alimentación humana. Oikus-tau, S.A., 1ª edición, Barcelona, pp 71-72, 1971.
- 2 Mcdonald, E., Greenhalgh, M. Nutrición Animal. Acribia, 5ª edición, Zaragoza, pp 498-501, 1999.
- 3 Bulliyya, G. Pescado y Enfermedad Nutricional. *Clinical Nutrition* 19(3): 165-170, 2000.
- 4 Hall, G. Tecnología del procesado del pescado. Acribia, 1ª edición, Zaragoza, pp 4-7, 2001.
- 5 Aberdeen, S. El pescado y las industrias derivadas. Editorial Acribia. Zaragoza, .p.p 281-289 y 229-262, 1987. 1990.
- 6 El Cronista Regional. Como lograr una buena nutrición y cuidar nuestro bolsillo. Santa Fe, Argentina. Jueves, Julio 4, 2002. Servidor utilizado Yahoo.
<http://www.elcronistaregional.com/notas/2002/07/04/001271.htm> (20 de Noviembre de 2002)
- 7 Fishgen Ltd. <http://www.fishgen.com/2TheTilapia%20-%20esp.htm> (25 de noviembre de 2002)
- 8 Tovar, J., Orihuela, B., Barrera, E. Algunos aspectos ecológicos de las especies de la familia Arildae en la Laguna de Alvarado Veracruz.
http://www.iztacala.unam.mx/coloquio/biologia_cartel/199.html (14 de Noviembre de 2002)

- 9 Franco, L., Naranjo, A. Biología y Pesquería del Caribe (*S. Maculatus*) en las costas del Estado Falcon. (FONAIAP Enero-Marzo 1992).
<http://www.cenlap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zt1002/texto/maduracion.htm>1991 (14 de Noviembre de 2002)
- 10 OCKERMAN, H.W. Industrialización de subproductos de origen animal. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España, pág. 295-299,1994.
- 11 Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. AOAC, Editor Williams, S., Washington D.C, 1989. Métodos 14.004, 7.009, 7.063, 7.074, 1989.
- 12 Kirk, R.S., Sawyer, R., Egan, H. Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. CECSA, 2a edición, México D.F, pp 12-29, 36-37, 199-250, 397, 671-721, 1996.
- 13 Miranda J., Técnicas Analíticas de Origen Nuclear: Un Curso Introductorio (Instituto de Física, UNAM, México D.F.) pp. 61-70, 2000.
- 14 Ruvalcaba J.L., Morales J. G., Lopez K. The New External Beam set-up of the Pelletron Accelerator at UNAM, México, (Abstracts for the Ninth International Conference on PIXE and its Analytical Applications, University of Guelph, Canada, p.62), 2001.
- 15 Manual for QXAS (International Atomic Energy Agency, Viena), 1995.
- 16 Miranda J., de Lucio O.G., Santillana E., Lugo M., Aguilar D.L. PIXEINT: un programa para análisis cuantitativo con PIXE (Resúmenes del XL Congreso Nacional de Física, Soc. Mex de Fís., México, D.F., p.27), 1997.
- 17 Kakade, M.L., Rackis, J.J., McGhee, J.E., Puskí, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. A collaborative analysis of an improved procedure, *Cereal Chem* 51:376-382, 1974.
- 18 Jaffe, W.G., Levy, A., González, D.I. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins, *Phytochem*, 13:2685-2693, 1974.

- 19 Fennema, O. Química de Alimentos. Acribia, 2ª edición, Zaragoza, pp. 65-71, 100-101, 140-150, 674-680, 960-965, 1993.
- 20 Harris, C.D. Análisis químico cuantitativo. Iberoamericana, 1ª edición, México D.F., pp. 637-653, 1990.
- 21 Laureles, L.R., Variability in fatty acid and triacylglycerol composition of the oil of coconut (*Cocos nucifera* L.) Hybrids and their parentals, J. Agric. Food Chem, 50: 1581-1585, 2002.
- 22 Sotelo, A., Lucas, B., Garza, L., Gira, F., Characteristics and fatty acid content of the fat of seeds of nine wild mexican plants, J. Agric. Food Chem, 38: 1503-1505, 1990.
- 23 Alegria, A., Barberá, R., Lagarda, M., López, J. Determinación de aminoácidos en fórmulas para lactantes por cromatografía de líquidos de alta resolución en fase reversa. *Alimentaria*, 295: 103-110, 1998.
- 24 Cohen, S., Michaud, D. Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6n-aminoquinolyl - N -hydroxysuccinimidyl carbamate and its application of the analysis of hydrolysate amino acids via HPLC. *Anal Biochem* 211: 279-287, 1993.
- 25 Díaz, J., Liberia, J., Comellas, L., Broto, F. Amino acid and amino sugar determination by derivatization with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate followed by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 719: 171- 179, 1996
- 26 Strydom, D., Cohen, S. Comparison of amino acid analysis by phenylisothiocyanate and 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate pre column derivatization. *Anal. Biochem.*, 222: 19-28, 1994.

- 27 Bidlingmeyer, B.A., Cohen, S.A., Tarvin, T.L. Rapid analysis of amino acid using pre column derivatization. *J. Chromatogr.*, 336: 93-104, 1984.
- 28 Lucas, B., Sotelo, A. Effect of different alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and feeds. *Anal. Biochem.* 109, 192-197, 1980.
- 29 Rama Roa, M., Chandra, K. *Colometric estimation of tryptophan content of pulses.* J. Food Sc. Tech., Vol, pp 213-216, 1974.
- 30 Church, D.C. *Livestock Feeds and Feeding.* O & B Books, 1ª edición, Oregon, pp 12-21, 1977.
- 31 Church, D.C. *Fisiología Digestiva y nutrición de los rumiantes.* Vol. 3.2ª edición. Editorial Acribla, Zaragoza, pp 39, 1974.
- 32 Church, D.C., Pond, W.G. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales.* Limusa, 2ª edición, México D.F., pp 115-118, 155-170, 175-214, 1990.
- 33 Berkow, R. *El manual Merck de diagnóstico y terapéutica.* Doyma, 8ª edición. Barcelona, pp 1777-1780, 1984.
- 34 Lopez, E.M. *Determinación de factores tóxicos en varias almendras no tradicionales con potencial aporte de proteína y grasa dietética.* Tesis Licenciatura, UNAM, México D.F., pp 34-39, 73-77, 2000.
- 35 Bender, A. *Nutrición y alimentos dietéticos.* 1ª edición, Acribla, Zaragoza, pp 226-228, 1973.
- 36 *FAO. Amino-Acid Content of foods and biological data on proteins.* Organization of the United Nations, 1ª edición, Roma pp 38-39, 42-43, 1970.

B. ANEXO

| Clave | mL extracto | mL H ₂ O | mL std. Tripsina | 10 | mL Bapna | 10 | ml ácido |
|-------|----------------|------------------------|---------------------|------|----------|------|------------|
| | | | | min | a 37°C | min | acético al |
| | | | | 37°C | | 37°C | 30% (AA) |
| B1 | 1.8 | 0.2 | 2+1mL AA | | 5 | | --- |
| 1 | 1.8 | 0.2 | 2 | | 5 | | 1 |
| B2 | 1.4 | 0.6 | 2+1mL AA | | 5 | | --- |
| 2 | 1.4 | 0.6 | 2 | | 5 | | 1 |
| B3 | 1.0 | 1 | 2+1mL AA | | 5 | | --- |
| 3 | 1.0 | 1 | 2 | | 5 | | 1 |
| B4 | 0.6 | 1.4 | 2+1mL AA | | 5 | | --- |
| 4 | 0.6 | 1.4 | 2 | | 5 | | 1 |
| BR | 0.0 | 2 | 2+1mL AA | | 5 | | --- |
| R | 0.0 | 2 | 2 | | 5 | | 1 |

NOTA: Si algún tubo presenta turbidez o precipitado es necesario filtrarlo a través de papel filtro (Whatman #1) para ello es conveniente dejar el tubo en reposo por 15 minutos.

Figura 1. Serie de tubos que se deben preparar para determinar la actividad inhibitoria de tripsina en la muestra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

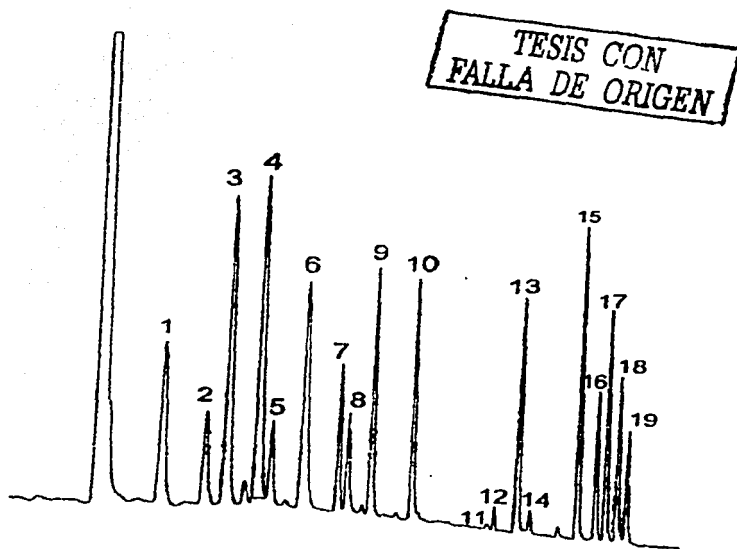


Figura 2. Cromatograma del perfil de aminoácidos.

1. Aspártico, 2. Serina, 3. Glutámico, 4. Glicina, 5. Histidina, 6. Amoniaco, 7. Arginina,
8. Treonina, 9. Alanina, 10. Prolina, 11. Cistina, 12. Tirosina, 13. Valina, 14. Metionina,
15. Lisina, 16. Isoleucina, 17. Leucina, 18. Norleucina, 19. Fenilalanina.

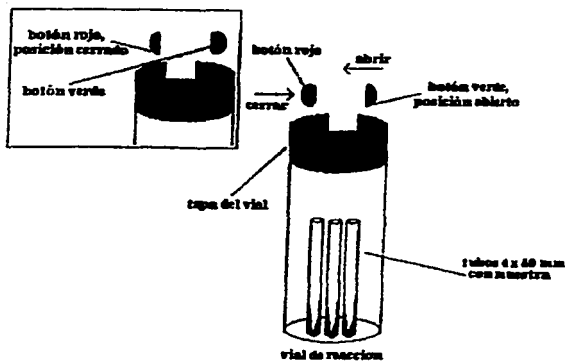


Figura 3. Vial de reacción empleado para la preparación de muestras e hidrólisis en la determinación de perfil de aminoácidos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

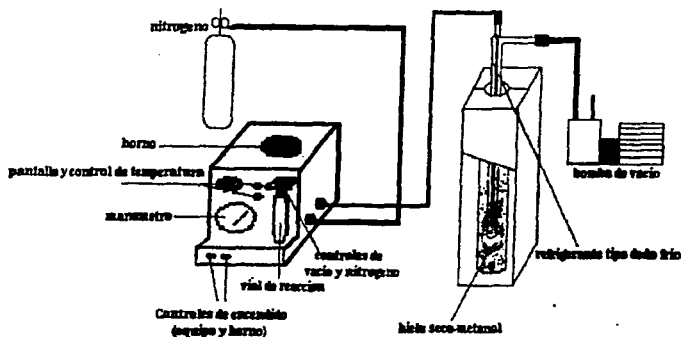


Figura 4. Estación de trabajo Pico-Tag, empleada en la determinación del perfil de aminoácidos.



Figura 5. Curva patrón y ecuación de regresión lineal para la determinación de triptófano en la harina de pescado de las especies analizadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 6. Niveles máximos de tolerancia de minerales dietarios en animales domésticos.³²

| Elemento | Especies | | | | | |
|------------------------|---|----------------------|--------|---|----------|---------|
| | Ganado vacuno | Ovejas | Cerdos | Avés de corral | Caballos | Conejos |
| Aluminio, ppm | 1,000 | 1,000 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Antimonio, ppm | | | | | | |
| Arsénico, ppm | | | | | | |
| Inorgánico | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| orgánico | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Bario, ppm | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Bismuto, ppm | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 | 2,000 |
| Boro, ppm | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Bromo, ppm | 200 | 200 | 200 | 2,500 | 200 | 200 |
| Cadmio, ppm | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Calcio, T | 2 | 2 | 1 | 0.4 | 2 | 2 |
| Cromo, ppm | | | | | | |
| Cloruro | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| Óxido | 3,000 | 3,000 | 3,000 | 3,000 | 3,000 | 3,000 |
| Cobalto, ppm | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Cobre, ppm | 100 | 25 | 250 | 300 | 800 | 200 |
| Flúor, ppm | 40 (joven) 50 (ganado de carne) | 60 (reproducción) | 150 | 150 (pavos) 200 (pollos) | 40 | 40 |
| Yodo, ppm | 50 | 50 | 400 | 300 | 5 | -- |
| Hierro, ppm | 1,000 | 500 | 3,000 | 1,000 | 500 | 500 |
| Plomo, ppm | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Magnesio, % | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Manganeso, ppm | 1,000 | 1,000 | 400 | 2,000 | 400 | 400 |
| Mercurio, ppm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Molibdeno, ppm | 10 | 10 | 20 | 100 | 5 | 500 |
| Níquel, ppm | 50 | 50 | 100 | 300 | 50 | 50 |
| Fósforo, % | 1 | 0.6 | 1.5 | 0.8 (gallinas ponedoras) 1.0 (otras) | 1 | 1 |
| Potasio, % | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| Selenio, ppm | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Silicio, % | 0.2 | 0.2 | -- | -- | -- | -- |
| Plata, ppm | -- | -- | 100 | 100 | -- | -- |
| Cloruro de sodio, % | 4 (en período de lactancia) 9 (sin lactar) 2,000 | 9 | 8 | 2 | 3 | 3 |
| Estroncio, ppm | | 2,000 | 3,000 | 30,000 (gallinas ponedoras) 3,000 (otras) | 2,000 | 2,000 |
| Azufre, % | 0.4 | 0.4 | -- | -- | -- | -- |
| Estaño, ppm | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Titanio, ppm | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Tungsteno, ppm | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Uranio, ppm | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| Vanadio, ppm | 50 | 50 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Zinc, ppm | 500 | 300 | 1,000 | 1,000 | 500 | 500 |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

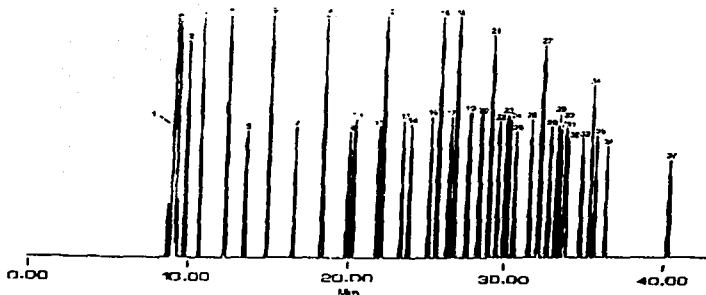


Figura 7. Cromatograma de ácidos grasos.

1. Ácido Butírico, 2. Ácido Carpoico, 3. Ácido Caprílico, 4. Ácido Cáprico, 5. Ácido Undecanoico, 6. Ácido Láurico, 7. Ácido Tridecanoico, 8. Ácido Mirístico, 9. Ácido Miristoléico, 10. Ácido Pentadecanoico, 11. Ácido cis-10-Pentadecanoico, 12. Ácido Palmítico, 13. Ácido Palmitoléico, 14. Ácido Heptadecenoico, 15. Ácido cis-10-heptadecenoico, 16. Ácido Esteárico, 17. Ácido Elaídico, 18. Ácido Oléico, 19. Ácido Linolelaídico, 20. Ácido Linoléico, 21. Ácido Araquídico, 22. γ -linolénico, 23. Ácido cis-11-eicosenóico, 24. Ácido Linolénico, 25. Ácido Heneicosanoico, 26. Ácido cis-11,14-Eicosatrienoico, 27. Ácido Behénico, 28. Ácido cis-8,11,14-Eicosatrienoico, 29. Ácido Erúxico, 30. Ácido cis-11,14,17-Eicosatrienoico, 31. Ácido Araquidónico, 32. Ácido Tricosanoico, 33. Ácido cis-13,16-Docosadienoico, 34. Ácido Lignocérico, 35. Ácido cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico, 36. Ácido Nervónico, 37. Ácido cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN