

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

RESPUESTA DE UN ORGANISMO ANIMAL AL SER ALIMENTADO
CON ACEITE DE COLZA (*Brassica napus* VAR. ZEPHYR Y
Brassica campestris VAR. ECHO)

T E S I S

Que como requisito parcial
para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

EVELIA ANGELICA SOLIS RODRIGUEZ

1 9 8 5



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE GENERAL

Pág.

INDICE DE CUADROS -----	III
RESUMEN -----	IV
I. INTRODUCCION -----	1
II. REVISION DE LITERATURA -----	4
2.1. Origen -----	4
2.2. Taxonomía -----	4
2.3. Importancia socioeconómica a nivel mundial -----	6
2.4. Usos -----	7
2.5. Condiciones del cultivo -----	8
2.6. Contenido y calidad del aceite de colza -----	11
III. MATERIALES Y METODOS -----	24
3.1. Especificaciones del experimento -----	24
3.2. Trabajo de laboratorio -----	24
3.2.1. Aceites usados -----	24
3.2.2. Análisis de los aceites -----	25
3.2.3. Dietas usadas -----	25
3.2.4. Análisis de las dietas -----	26
3.3. Diseño experimental y sujetos de estudio -----	26
3.4. Análisis histológico -----	27
3.5. Observación microscópica -----	28
3.6. Análisis estadístico -----	28
3.6.1. Análisis de varianza -----	28
3.6.2. Comparación de medias -----	28
3.6.3. Análisis de correlación -----	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSION -----	29
4.1. Resultados de los análisis de los aceites y dietas -----	29
4.2. Análisis Estadístico -----	29

	Pág.
4.3. Análisis Histológico -----	33
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES -----	52
APENDICE -----	54
VI. BIBLIOGRAFIA -----	80

INDICE DE CUADROS

CUADRO	Pág.
1 ANALISIS DE VARIANZA POR MINIMOS CUADRADOS PARA DATOS CON DESIGUAL NUMERO DE SUBCLASES, SEGUN EL METODO DE W. HARVEY, PARA CONSUMO DE ALIMENTO -----	31
2 ANALISIS DE VARIANZA POR MINIMOS CUADRADOS PARA DATOS CON DESIGUAL NUMERO DE SUBCLASES, SEGUN EL METODO DE W. HARVEY, PARA GANANCIA DE PESO -----	32
3 COMPARACION DE MEDIAS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN ($\alpha < 0.05$), PARA CONSUMO DE ALIMENTO -----	32
4 COMPARACION DE MEDIAS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN ($\alpha < 0.05$), PARA GANANCIA DE PESO -----	33
5 ANALISIS QUIMICO EN LOS ACEITES DE SEMILLA DE COLZA (<i>Brassica napus</i> var. ZEPHYR y <i>Brassica campestris</i> var. ECHO) Y EN EL ACEITE de maiz (<i>Zea mājz</i>).	78
6 DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA DE GAS -----	79
7 ANALISIS QUIMICO DE LA COMPOSICION DE LAS TRES DIETAS, ADMINISTRADAS A DIFERENTES GRUPOS DE RATAS DURANTE 10 SEMANAS DE EXPERIMENTACION -----	79
8 SE DESCRIBEN LOS RESULTADOS HISTOLOGICOS DE LOS TEJIDOS DE HIGADO Y CORAZON TEÑIDOS CON HEMATOXILINA-EOSINA, DE RATAS ALIMENTADAS CON TRES DIETAS: UNA CON ACEITE DE MAIZ (CONTROL) Y DOS CON ACEITE DE COLZA, VARIEDAD ECHO (<i>Brassica campestris</i> , 26.42% AC. ERUCICO) Y VARIEDAD ZEPHYR (<i>Brassica napus</i> , 1.34% AC. ERUCICO) -----	40
9 SE DESCRIBEN LOS RESULTADOS HISTOLOGICOS CUALITATIVOS DE LOS TEJIDOS DE HIGADO TEÑIDOS CON LA TECNICA DE ROJO OLEOSO, PARA DEMOSTRAR LA PRESENCIA DE GRASA EN CORTES POR CONGELACION, DE RATAS ALIMENTADAS CON TRES DIETAS: UNA CON ACEITE DE MAIZ (CONTROL) Y DOS CON ACEITE DE COLZA, VARIEDAD ECHO (<i>Brassica campestris</i> , 26.42% AC. ERUCICO) Y VARIEDAD ZEPHYR (<i>Brassica napus</i> , 1.34% AC. ERUCICO), -----	41

RESUMEN

Ante la necesidad de disminuir las importaciones de semillas oleaginosas, para México, es urgente incrementar la producción de aceites de origen vegetal sobre todo, en cultivos que tienen grandes ventajas agronómicas como lo es la colza (*Brassica spp.*) que se adapta con gran facilidad en la zona de Valles Altos y Mesa Central, ya que contiene de 40 a 45% de aceite y la torta (residuo) tiene un alto contenido de proteína.

El aceite de colza para consumo humano, se usa en grandes áreas del mundo, sin embargo, se encontraron algunos inconvenientes debido a la presencia del ácido erúcido; motivo por el cual es necesario efectuar trabajos de investigación sobre el efecto de este ácido.

El objetivo es determinar la toxicidad del ácido erúcido al evaluar dos variedades con diferente concentración de este ácido. Se probaron en tres grupos de ratas blancas (*Ratus ratus*), la variedad Zephyr (*Brassica napus*) con baja concentración en ácido erúcido (1.34%) y la variedad Echo (*Brassica campestris*) con alta concentración en ácido erúcido (26.42%); la dieta control fue con aceite de maíz (*Zea maíz*). Incluyendo el aceite de cada variedad en un 8% en una dieta balanceada.

Las variables que se estudiaron fueron el consumo de alimento y ganancia de peso. Se realizó estadísticamente el análisis de varianza por mínimos cuadrados y comparación de medias por la prueba de Duncan.

Los resultados indican que en el consumo de alimento solo hubo diferencias significativas entre la dieta con aceite de maíz (control) y la dieta

con aceite de colza con alta concentración en ácido erúxico, y en la ganancia de peso hubo diferencias altamente significativas entre la dieta con aceite de maíz y las dos dietas con aceite de colza. Estas diferencias no son debidas al ácido erúxico, ya que entre los dos aceites de colza no hubo diferencias significativas en el consumo de alimento ni en la ganancia de peso.

Se procesaron los órganos de hígado y corazón, en cortes histológicos para observar si hubo alguna alteración (HE). Se evaluó cualitativamente la presencia de grasa con la técnica de Rojo Oleoso, durante las diez semanas de tratamiento. La cantidad de grasa acumulada en el citoplasma de los hepatocitos fue por lo general más baja con la dieta control que con las dos dietas de aceite de colza, donde la cantidad de grasa acumulada en el citoplasma de los hepatocitos fue parecida, y a partir de la 8a. semana se asemeja a la dieta control.

No se determinaron alteraciones histológicas como fibrosis o necrosis en los cortes de corazón (HE), como lo citan Kramer *et al.* (1973), informe de la ONUAA y la OMS (1977), etc., aunque si se observaron vacuolas que posiblemente indican presencia de grasa, las cuales se encontraron en la misma cantidad en los cortes de corazón de ratas alimentadas con las tres dietas (dos con aceite de colza de baja y alta concentración en ácido erúxico y una con aceite de maíz).

1. INTRODUCCION

Nuestro país tiene uno de los más altos índices de crecimiento demográfico, por lo que la producción nacional de oleaginosas no satisface la demanda, lo cual causa graves problemas a la economía del país, ya que se importan semillas oleaginosas, aceites y pastas en cantidades considerables (Palafox, 1982).

Ante tal situación, se tiene la urgente necesidad de incrementar la producción de aceites de origen vegetal, siendo necesario intensificar los trabajos de investigación agrícola sobre todo en cultivos que tienen grandes ventajas agronómicas como lo es la colza (*Brassica spp.*) que se adapta con gran facilidad en la zona de Valles Altos y Mesa Central (Rincón, 1981).

El cultivo de la colza tiene poco de haberse introducido en México, sin embargo, los trabajos de investigación indican que tiene gran posibilidad de establecimiento, por lo cual se le ofrece al agricultor un nuevo cultivo redituable, la colza es conocida en México como nabillo, nabo o mostacilla y nuestro agricultor la identifica como mala hierba, en los cultivos de trigo (*Triticum aestivum L.*), cebada (*Hordeum vulgare L.*), maíz (*Zea mays L.*), alfalfa (*Medicago sativa L.*) y avena (*Avena fatua L.*). (Palafox, 1972; Robles, 1980).

Dentro de los aceites de origen vegetal, a nivel mundial la colza ocupa el quinto lugar en importancia después de la soya, girasol, cacahuete y semilla de algodón (Holt, 1973).

El principal interés del cultivo de la colza es su semilla de la que se obtiene aceite y una torta para la alimentación del ganado. Las semillas de la colza contienen de un 40 a un 45% de aceite. Este aceite se consume en grandes áreas del mundo (ver Tabla 1), si bien se han encontrado algunos inconvenientes para su consumo por los seres humanos, debido a la presencia del ácido erúcico (más del 50%), a este ácido se le atribuyen ciertas afecciones hepáticas y cardíacas, así como alterar el ritmo de crecimiento, esto ha sido observado en animales de laboratorio (ratas) con dietas que poseen altas concentraciones de estos aceites; actualmente, se han encontrado variedades con bajo contenido en este ácido. Como residuo de la extracción del aceite, queda una torta con una riqueza de proteínas del 30 al 40%, pero con un inconveniente que es su alto contenido en glucosinolatos, debido a lo cual no puede ser consumido en niveles elevados por los animales, actualmente se han encontrado variedades con bajo contenido en glucosinolatos, quedando una torta apta para la alimentación animal, ya que sus características (fibra, proteína, grasas, etc.) son muy similares a las de la soya (León, 1978).

OBJETIVO

El objetivo es determinar la toxicidad del ácido erúxico presente en algunos aceites de colza, incluyendo en la dieta un nivel de 8% de dos tipos de aceite de colza, variedad Zephyr (*Brassica napus*) y variedad Echo (*Brassica campestris*), baja y alta en ácido erúxico respectivamente, para obtener información acerca del efecto de estos aceites en un organismo vivo (ratas). Se pretende que esta información contribuya a definir si algunas de las variedades de colza existentes en nuestro país pueden pasar a ser parte de las oleaginosas comúnmente usadas en la obtención de aceite para consumo humano y contribuir a aminorar el déficit de oleaginosas que enfrenta el país.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Origen

El origen del cultivo de la colza (*Brassica spp.*) no está bien definido por falta de documentación; se tiene información de que: a) fue cultivada en la India 2000 años A.C., b) de China se introdujo al Japón aproximadamente 35 años A.C., c) su distribución en Europa ocurrió en el siglo XIII, d) en Norte y Sudamérica comenzó a ser cultivada durante la segunda guerra mundial, a partir de 1966 este cultivo comenzó a tener gran auge en Canadá, en donde en 1969 se cosecharon 927,500 toneladas, alcanzando el tercer lugar en producción en China e India. Para nuestro país, el cultivo de la colza es de reciente introducción y no existe información estadística al respecto, la mayoría de las variedades probadas han sido introducidas del Canadá (Loof y Appelqvist, 1972; Palafox, 1973).

2.2. Taxonomía

La colza pertenece a la familia de las crucíferas, siendo una planta herbácea y bianual (Robles, 1980).

Su raíz es típica pivotante, profunda, con raíces laterales que originan raicillas absorbentes. En el estado cotiledonar tiene de 4 a 8 cm de largo. Cuando tiene de 4 a 6 semanas de haber emergido, la raíz engrosa en la parte basal y se mantiene delgada en la parte apical.

Su tallo es erecto, simple y ramificado de 0.50 y 1.50 m de altura según sean las variedades y las regiones agrícolas, de consistencia herbácea.

Sus hojas son ásperas al tacto, las superiores son oblongo-lanceoladas o lanceoladas, de color verde claro, con aurículas grandes y borde casi entero, las hojas intermedias son menos lobuladas que las inferiores, más o menos lampiñas de color verde-azuloso, las hojas inferiores son más grandes y dentadas con un lóbulo terminal obtuso, normalmente ciliadas en los bordes y con pelillos suaves y cortos, de color verde oscuro.

Sus flores están agrupadas en inflorescencias racimosas con numerosas flores amarillas, hermafroditas y actinomorfas. Son pediceladas y su perianto se diferencia perfectamente en cáliz de cuatro sépalos y corola de cuatro pétalos característicos de las crucíferas; el androceo está constituido por seis estambres tetradímeros, las antenas tienen dehiscencia longitudinal. La polinización es cruzada. El ovario es súpero, bilocular y bicarpelar, dividido por un falso tabique que separa los carpelos. El tallo de la inflorescencia permanece corto y las flores emergen en grupos sobre la yema terminal.

Su fruto es una silícua alargada, cilíndrica y con un extremo puntiagudo, de 3 a 4 mm de ancho y de 6 a 7 cm de largo, alcanzando en la madurez hasta 10 cm, de color marrón claro.

Sus semillas en cada uno de los frutos contiene de 10 a 20 semillas de color amarillo claro, negro o parduzco, ovaladas o ligeramente esféricas cuyo diámetro varía de 2 a 2.5 mm.

La colza no deriva de un solo tipo de planta, sino de varias especies generalmente pertenecientes al género *Brassica*, algunas veces son una mezcla de dos o más tipos o especies, aunque estas especies son en apariencia similares. Las especies más comunes *Brassica campestris* L. y *Brassica napus* L., las cuales no difieren grandemente en sus características morfológicas, pero sí en las fisiológicas; como la colza de tipo de invierno que no

inicia el período generativo si el cultivo no ha sido expuesto a temperaturas bajo cero. Genéticamente *B. napus* difiere de *B. campestris* en el número haploide (n) de cromosomas en sus gametos, la primera tiene $n = 19$ y la segunda $n = 10$. La forma de las inflorescencias, generalmente es un indicador para distinguir dichas especies; por ejemplo, en *B. campestris* las yemas están situadas a un nivel más bajo de las flores recién abiertas; sin embargo también se presentan excepciones a esta regla. Otra forma de diferenciarlas es la posición de la lígula; por ejemplo, en *B. campestris*, esta lámina (lígula) inferior de la hoja cubre completamente el tallo; en *B. juncea* la lígula no lo cubre; en *B. oleracea* la lígula se extiende al tallo y en *B. nigra* la lígula termina en pedúnculo y por ende no cubre el tallo (Bengtsson, 1972).

2.3. Importancia socioeconómica a nivel mundial

Hasta la fecha y salvo casos aislados la semilla de colza no se ha usado en México para la extracción de aceite, no obstante la enorme importancia que tiene en el mundo su uso, como aceite alimenticio e industrial; su consumo va aumentando día con día en países como China, Japón y Canadá; en la India constituye la materia prima de aproximadamente un tercio del aceite alimenticio que se consume (Robles, 1980).

Tabla 1. PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES DE COLZA

<u>País</u>	<u>Superficie cosechada en ha</u>	<u>Rendimiento promedio kg/ha</u>	<u>Producción en ton</u>
Asia	6 470 000	497	3 214 000
India	3 145 000	497	1 562 000
China	2 603 000	463	1 205 000
Norte y Centroamérica	1 354 000	1 316	1 783 000
Europa	1 352 000	1 866	2 523 000
Canadá	1 348 000	1 318	1 776 000
Pakistán	496 000	582	289 000
Polonia	425 000	1 647	700 000
Francia	273 000	1 465	400 000
Alemania	128 000	2 461	315 000
Suiza	123 000	2 259	277 000
Sudamérica	54 000	1 528	83 000
Africa	50 000	400	20 000
Oceanía y Australia	20 000	750	15 000
U.R.S.S.	13 000	1 208	16 000
México	6 000	1 000	6 000
U.S.A.	1 000	1 333	1 000

La colza por lo reciente de su introducción no tiene importancia en México, pero al cabo de unos años, se podría encontrar compitiendo con las demás oleaginosas cultivadas, ya que el mercado de los aceites y pastas es favorable para el inicio del cultivo de esta oleaginosa (Robles, 1980).

En México, se siembra en pequeñas parcelas en Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y otros estados y a nivel experimental en campos del INIA.

2.4. Usos

Appelqvist (1969) señala que desde mediados del siglo XIX el aceite de colza se usaba más como lubricante y como iluminante, más tarde fue desplazado por los aceites minerales, el aceite de colza también se usó en el - -

alumbrado de los candiles en China, en la plaza de los emperadores de Tokio, Japón y en algunos templos ceremoniales. También se usó en varias partes del mundo como sustituto de productos del petróleo, en la preparación de alimentos para animales.

Actualmente, la semilla de colza se usa principalmente para la preparación de alimentos comestibles, en Canadá se ha incrementado debido a la demanda de estos productos por las amas de casa, tanto para hornear como para cocinar.

La planta de la colza se utiliza también como forrajera, ya que produce una pastura succulenta que los animales comen sin dificultad, dado lo jugoso de sus hojas es un forraje apropiado para las vacas lecheras y los cerdos.

2.5. Condiciones del cultivo

Gallegos *et al.* (1972) y Rincón (1981) reportan que en México las variedades de colza se desarrollan bien en climas templados o fríos como los Valles Altos y en algunas zonas de la Mesa Central. Las plantas se desarrollan bien en varios tipos de suelo; sin embargo, los mejores para esta planta son los suelos negros profundos y de textura franca o limosa. En suelos delgados la planta se puede desarrollar bien si el nivel de fertilidad del suelo es el apropiado. Cuando la precipitación es escasa los suelos arcillosos o arcillo-limosos son los más apropiados para la colza. Ese cultivo es más exigente en sus necesidades de agua que el girasol por lo cual se debe sembrar de preferencia en regiones con un mínimo de lluvia de 500 mm durante su ciclo de cultivo, o bien en donde es posible dar un riego de auxilio en caso necesario. La preparación del terreno es muy importante para obtener éxito con el cultivo de la colza; con una buena nivelación del terreno se

obtiene una adecuada distribución de la humedad y en consecuencia una mejor germinación. La profundidad de la siembra debe ser de dos a tres cm como máximo; el método más adecuado para sembrar es con una máquina sembradora de semilla, la densidad es conveniente que sea de 50 a 70 plantas por m². La colza es una planta que necesita fertilizantes para lograr mayor rendimiento, en general responde bien a la aplicación de dosis moderada de nitrógeno y fósforo. Es necesario que la colza esté libre de maleza ya que cuando las plantas están pequeñas no pueden competir con ellas y por eso es necesario eliminarlas. La cosecha de la colza se debe realizar cuando la semilla ha madurado, sea de color amarillo y pueda apretarse entre los dedos sin que se quiebre; se puede recolectar con cosechadora de cereales; la semilla se debe almacenar en un lugar seco y fresco, cuando tenga como máximo un 10.5% de humedad. Después de sembrar la colza se recomienda una rotación de cultivos con cereales durante 3 ó 4 años, para poder sembrarla de nuevo. Existen dos especies de colza: *Brassica napus* que es tardía y *Brassica campestris* de ciclo precoz y semilla pequeña. En siembras tempranas y para uso industrial se recomienda sembrar las variedades Target, ST-71-2 y Turret, y para consumo humano las variedades Oro y Zephyr, dichas variedades rinden de 1500 a 2000 kg por hectárea y duran de 130 a 160 días de la siembra a la cosecha; para siembras tardías y uso industrial las variedades Pachuca y Echo, que rinden de 1000 a 1400 kg por hectárea y tardan de 100 a 110 días de la siembra a la cosecha. La colza debe sembrarse lo más temprano posible y cuando el terreno tenga buen contenido de humedad, de acuerdo a la época de lluvias, en el Valle de México, la mejor época de siembra para variedades tardías es durante la segunda quincena de mayo y para las precoces durante la segunda quincena de junio y primera de julio. En los Valles Altos de los estados de Tlaxcala e Hidalgo, la mejor época de siembra para variedades tardías es durante la primera quincena de mayo y para variedades precoces durante el mes

de junio.

León *et al.* (1978) mencionan que las variedades más utilizadas hasta el momento según los países de origen son las siguientes:

Variedades canadienses: Tipo Primavera: "Span", "Torch",
"Tower", "Midas", "Oro".

Variedades alemanas: Tipo Invierno: "Erra", "Rapora",
"Lesira", "Quinta".

Tipo Primavera: "Erglu".

Variedades francesas: Tipo Invierno: "Primor", "R-39",
"R-40".

Tipo Primavera: "Cresor", "Orpal",
"Romeo", "Brutor".

Variedades suecas: Tipo Invierno: "Status", "Sipol",
"Brink".

Tipo Primavera: "Gulliver", "Vega".

Variedades inglesas: Tipo Primavera: "Maris Haplona".

Lodhi *et al.* (1979) realizaron un experimento en el que cinco variedades de *Brassica napus* fueron sembradas en tres fechas espaciadas en dos años. Estudiaron diferencias entre variedades en cuanto al rendimiento en grano y materia seca, fecha de crecimiento, etc., resultando la colza japonesa la que tuvo la más alta producción de semilla y materia seca de la fecha de septiembre y octubre, pero la variedad "BS-113" tuvo los máximos valores para estos mismos caracteres en la siembra de noviembre. Con esto se observa que las diferentes fechas de siembra, tienen relación con el rendimiento de las diferentes variedades, ya que el medio ambiente tiene influen
cia sobre ellas.

El INIA, dependiente de la SARH (1975) en la Costa de Jalisco en 1973, la sembró como un cultivo de introducción, realizando por primera vez un en zayo con 12 variedades de colza y se obtuvieron como resultados los siguien tes rendimientos: "Turret" 1875 kg/ha, "Nuget" 1853.3 kg/ha, "Target" 1755.5 kg/ha, "Norin-16" 1364.4 kg/ha, "Span" 1155.5 kg/ha, "Zephyr" 1124.4 kg/ha, "Tanka" 968.8 kg/ha, "Oro" 773.3 kg/ha, "Bronowsky" 617.7 kg/ha, "Regina" 577.7 kg/ha, "Echo" 573.3 kg/ha y "Rigo" 542.2 kg/ha.

INIA, dependiente de la SARH (1975) en Chapingo, México, 1974; se rea- lizó un ensayo de rendimiento en 10 variedades de colza, encontrándose los siguientes resultados en las variedades: "Midas" 2571.0 kg/ha, "Target" 2427.0 kg/ha, "ST-71-2" 2402.5 kg/ha, "Turret" 2331.3 kg/ha, "Zephyr" 1887.7 kg/ha, "Oro" 1820.3 kg/ha, "Picra" 1676.4 kg/ha, "Pachuca" 1358.3 kg/ha, "Polish" 1079.3 kg/ha y "Span" 812.7 kg/ha; siendo las más rendidoras las variedades "Midas" y "Target" y la menos rendidora la variedad "Span".

2.6. Contenido y calidad del aceite de colza

Aguirre *et al.* (1979) reportan que la composición química de la semi- lla de *Brassica campestris* recolectada en el altiplano de Perote, Ver., en donde crece silvestre invadiendo las tierras de cultivo de esa región, es la siguiente:

Proteínas (torta)	33-35%
Proteínas (semilla)	23.4-24.2%
Grasas	37.6%
Fibra cruda	7.9%
Cenizas	5.5%
Extracto libre de nitrógeno	21.2%

Según Robles (1980) la semilla está compuesta básicamente por aceite 45% y proteína 20%. El contenido de aceite varía ampliamente con el año, --

localización, maduración de la cosecha, fertilidad del suelo y variedad. La calidad del aceite de colza es similar al de otras oleaginosas como la soya, el algodón y el girasol. Los principales ácidos grasos contenidos en el aceite son: ácido erúxico 57%, ácido linolénico 14.5% y ácido oléico 20.2%. Este aceite está clasificado como semisecante y semisaturado, con un índice de yodo (97-108) y un índice de saponificación (170-180). El coeficiente de digestibilidad para el aceite de colza está entre 98 a 99% para el hombre y de 77% para ratas.

Holt (1973) reporta que en Canadá la semilla de colza es muy apreciada por su aceite con una producción en 1973 estimada en 53 millones de Bushels, comparada con una producción en el mismo año de 14 millones de Bushels de aceite de semilla de soya.

Dos de las limitaciones para el aumento de la producción de semilla de colza son de importancia nutricional: 1) la controversia sobre los efectos fisiológicos de los ácidos grasos de cadena larga y 2) la presencia de sustancias en la harina, las cuales limitan el uso de una proteína de alta calidad. Hay contradicciones en la información de la literatura sobre los efectos del aceite de semilla de colza sobre el crecimiento, eficiencia reproductiva y la composición lipídica; los efectos han sido atribuidos al alto contenido de ácido erúxico y/o a bajos niveles de ácidos grasos saturados en los triglicéridos. En Canadá se tomó la decisión de producir cultivos con bajo contenido en ácido erúxico.

La harina de semilla de colza contiene tres importantes glucosinolatos y se observó que con la hidrólisis, los glucosinolatos produjeron sustancias que reducen la eficiencia alimenticia, ganancia de peso y la reproducción, cuando son consumidos por ciertas especies de animales. La separación de los glucosinolatos de la harina de semilla de colza aumenta el valor de

la harina como una fuente de proteína suplementaria. Los métodos físico-químicos para separar los glucosinolatos no han sido satisfactorios. Se intenta obtener variedades con bajo contenido de glucosinolatos por medio de cruas de plantas.

Sevilla y Aramaki (1980) mencionaron que los aceites varían en tipos y cantidades de ácidos grasos, los cuales determinan su uso y la calidad del aceite y subsecuentes productos. Se estudió la calidad de diferentes variedades de colza de las especies *B. napus* y *B. campestris*, algunas de origen canadiense que se encuentran en el Campo Agrícola Experimental del Valle de México (CAEVAMEX) y además una colectada en este campo en 1972. Las variedades fueron "Norin 16", "Pachuca", "ST-71-2", "Span", "Turret", "Target", "Tower", "Oro", "Victoria", "Zephyr", "Amarilla" (colectadas en el campo). Las determinaciones que se realizaron fueron: cantidad de aceite, contenido y cantidad de ácidos grasos, índice de refracción, densidad relativa. De las variedades estudiadas se recomendaron como productoras de aceite, con bajo contenido de ácido erúcico a la variedad "Oro" (4.67%) y "Zephyr" (1.34%), por su alto contenido de aceite sobresalieron las variedades "Oro" con 46.64% y "Zephyr" con 44.20%. Los resultados obtenidos para la densidad relativa e índice de refracción, coincidieron con las recomendaciones internacionales standar para aceite de semilla de colza; densidad relativa (agua a 20°C) de 0.910 a 0.920; índice de refracción a 25°C de 1.470 a 1.474; número de saponificación de 170 a 180; número de yodo de 97 a 108. Para Zephyr el índice de refracción es de 1.4711 y su densidad relativa es de 0.9153.

Jiménez (1966) y Ramírez (1970) reportan que el aceite de colza difiere de los de primera calidad por tener una cantidad substancial de ácidos erúcico y eicosenoico, 8.9% de ácido linolénico y una cantidad más baja de

ácido palmítico. Actualmente, se están llevando a cabo estudios tendientes a mejorar la calidad del aceite a fin de hacerlo competitivo con los aceites de primera calidad como son el de girasol, el de maíz y el de cacahuate; estos aceites comestibles son bajos en ácido linolénico y altos en ácidos oléico y linoléico. Los ácidos grasos que componen el aceite de colza son: mirístico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico, lignocérico, linolénico y erúcico.

González (1974) cita que en promedio la colza en el Valle del Yaqui, Sonora, contiene 36.3% de aceite, este contenido es semejante al del cártamo y otras oleaginosas, por lo que puede competir favorablemente en el mercado.

Aguirre *et al.* (1979), Roquelin (1978) y Stefansson *et al.* (1961) indican que los aceites extraídos del género *Brassica*, se caracterizan por tener un alto contenido de ácido erúcico o 13-docosenoico; por lo cual, se realizaron estudios en tres especies de *Brassica*, que fueron analizadas para ver el contenido de ácido erúcico por métodos de cromatografía y resultó que los valores extremos de ácido erúcico fueron: mostaza (*Brassica juncea* L.) 21 a 47%, colza (*Brassica campestris* L.) 22 a 25% y colza (*Brassica napus* L.) 28 a 48%.

Stefansson y Kondra (1975) estudiaron a la variedad "Tower" (*Brassica napus* L.) la cual produce aceite con bajo contenido de ácido erúcico y pasta con bajo contenido de glucosinolatos, en el oeste de Canadá en 1972. El rendimiento obtenido fue 2.87 toneladas de semilla por hectárea y con un contenido de aceite en la semilla de 42.8%.

Zadernowsky y Sosulski (1978) analizaron el total de lípidos presentes en cultivos de semilla de colza con medio y bajo contenido de ácido erúcico.

Los lípidos extraídos con cloroformo-metanol fueron de 43.7% para el aceite de semilla de colza con contenido medio de ácido erúxico (MEAR) y de 43% en aceite de semilla de colza con contenido bajo de ácido erúxico (LEAR). Los lípidos fueron fraccionados en sus constituyentes polares y no polares. Los triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres, esterol ésteres, esteroides, fosfolípidos y glucolípidos, fueron cuantificados y sus ácidos grasos determinados. Los triglicéridos correspondió a la fracción no polar predominante, promediando 92% del total de lípidos, mientras que en el caso de los diglicéridos y esterol ésteres cada uno constituyen más del 1% del total. Los ácidos grasos libres, esteroides y monoglicéridos fueron los componentes menores de la fracción no polar. También se encontraron en cada aceite, lípidos polares, principalmente fosfolípidos (3.2 a 3.6%) y una cantidad significativa de glucolípidos (0.9%). McKillican (1966), obtuvo similares resultados con lípidos extraídos con hexano, aunque la cantidad de triglicéridos fue más alta (94.3%) y el contenido de lípidos polares más bajo (1.8%). Estas diferencias pueden ser debidas a la técnica de extracción de lípidos usada en cada estudio. Los análisis de los ácidos grasos de los triglicéridos, mostraron que las muestras MEAR promediaron alrededor del 40% de ácido oléico, 20% de ácido linoléico, 9% de ácido linolénico, 12% de ácido eicosenoico y 15% de ácido erúxico. Los triglicéridos de las muestras LEAR; sin embargo, contienen 60% de ácido oléico y sólo 2% de ácido eicosenoico y erúxico.

Kramer *et al.* (1973) probaron el efecto de 3 aceites de semilla de colza con diferentes niveles de ácido erúxico (*Brassica napus* var. "Oro" 1.6%, *Brassica campestris* var. "Span" 4.3%, *Brassica campestris* var. "Echo" y "Arlo" "RSO" 22.3%), estas fueron administradas a ratas machos y hembras en un 20% en peso en sus dietas. Se ha observado que consumos prolongados con un

20% en peso de aceites vegetales en dietas balanceadas para animales de laboratorio no producen efectos negativos, excepto citas recientes indican algunas lesiones histológicas, las cuales pueden resultar de consumir dietas con un 20% en peso de aceite de semilla de colza alto en ácido erúxico. Las dietas conteniendo aceite de las variedades Span, RSO y en menor extensión la dieta conteniendo aceite de la variedad Oro, causaron un aumento temporal de los lípidos del hígado y del corazón de los animales de experimentación medido gravimétricamente y demostrado cualitativamente por la técnica de coloración de rojo oleoso en cortes de tejido de hígado y de corazón. En las ratas que consumieron la dieta con aceite de maíz (control), la concentración de ácido linoléico fue alta en el corazón y en el hígado, mientras que en las ratas alimentadas con aceite de las variedades Oro, Span y RSO, el ácido oléico fue alto y se observó acumulación de ácidos eicosenoico y erúxico en el corazón siendo severa con la variedad RSO, moderada con Span y ligera con Oro. El consumo prolongado de aceite de semilla de colza produjeron una tendencia hacia la normalización en los lípidos del corazón y del hígado de las ratas hembras y en el corazón de las ratas machos, pero los lípidos del hígado de las ratas machos permanecieron altos durante todo el experimento. El aumento del ácido erúxico en los tejidos de animales que consumieron aceite de colza no es debido al aumento de la absorción intestinal del ácido erúxico sobre otros ácidos grasos, ya que la digestibilidad del aceite de colza conteniendo ácido erúxico es más baja que la de otros aceites vegetales. Por lo tanto, la acumulación de grasa asociada, con el consumo de aceites de colza ricos en ácido erúxico, está probablemente asociada con: a) la disminución de la actividad de la enzima lipasa-triglicérido, provocada por el ácido erúxico, b) la reducción de la β -oxidación de este ácido graso y c) los efectos inhibitorios del ácido erúxico sobre el --

metabolismo de otros ácidos grasos de cadena larga. La reducción de los niveles de lípidos en los tejidos después de un consumo prolongado de aceite de semilla de colza con ácido erúcico (4 a 16 semanas), puede estar relacionado con el aumento de la actividad de las enzimas que metabolizan la grasa. En este estudio se observó que el aceite de semilla de colza alto en ácido erúcico disminuye el ritmo de crecimiento en ratas.

Abdellatif (1970) demostró que la dieta con aceite de semilla de colza alto en ácido erúcico indujo severa lipidosis cardiaca en ratas, de 3 a 6 días (pico más alto), la cual después desapareció. Abdellatif (1972) indica que en ratas que consumieron aceite de colza con contenido medio y alto de ácido erúcico, la lipidosis cardiaca fue seguida por infiltración histiocítica focal y finalmente fibrosis miocárdial focal. Previamente, Roquelin y Cluzan (1968) habían encontrado lesiones cardiacas en ratas que consumieron aceites de colza bajos en ácido erúcico, esto fue confirmado por Kramer *et al.* (1973) utilizando aceite de semilla de colza bajo y alto en ácido erúcico en ratas machos; pero en ratas hembras no fue observada ninguna lesión significativa sólo lipidosis.

Kramer *et al.* (1973) concluyó que es muy posible que las lesiones cardiacas encontradas en ratas machos que consumieron aceite de colza con 40% de calorías dietéticas, resultaron no sólo por concentraciones de ácido erúcico y eicosenoico, sino también por un ácido graso no balanceado, por ejemplo, con alto contenido de ácido oléico o linolénico y bajo contenido de ácidos grasos saturados.

El informe de la ONUAA y la OMS (1977) indica que los aceites de *Brassica*, ricos en ácido erúcico retardan el crecimiento en ratas; además diversos órganos quedan afectados desde el punto de vista morfológico, bioquímico y funcional. La ingestión durante poco tiempo de aceites de *Brassica* ricos en

ácido erúxico ocasionan una lipidosis difusa y pasajera del miocardio en varias especies animales. La acumulación de triglicéridos en el corazón de las ratas alcanza un máximo a los 7 días aproximadamente y vuelve a niveles casi normales a las 4 semanas a pesar de continuar la misma dieta. La acumulación de triglicéridos en el corazón es directamente proporcional a la cantidad de ácido erúxico ingerida. Se ha discutido la posibilidad de que el ácido erúxico se oxide más difícilmente y, por esto, se acumule en las células cardíacas en forma de triglicéridos. La alimentación durante largo tiempo con aceites de *Brassica* ricos en ácido erúxico, induce lesiones necróticas focales, con infiltración reactiva de células que llevan a alteraciones fibróticas del miocardio de la rata, siendo mayor el efecto en machos que hembras. Se ha indicado que, en el caso de la rata, el ácido erúxico es por sí un agente cardiopatógeno capaz de producir fibrosis y necrosis cardíaca. Los estudios realizados con aceite de *Brassica* pobres en ácido erúxico demuestran que, al parecer, permiten el crecimiento de la rata igual que otras grasas y aceites. Se ha comprobado que la administración de aceites de *Brassica* pobres en ácido erúxico durante mucho tiempo aumenta las lesiones necróticas del miocardio por encima del nivel ya existente, siendo mayor el efecto en machos que en hembras, pero su gravedad es menor que cuando se emplean aceites de colza ricos en ácido erúxico. La hidrogenación parcial de los ácidos grasos reduce los efectos cardiopatógenos del aceite de colza pobre en ácido erúxico. Los estudios morfológicos de otros órganos no ha revelado efectos deletéreos causados por aceite de colza pobre en ácido erúxico. Actualmente, existen considerables controversias sobre si las lesiones que a la larga ocasionan los aceites de *Brassica* pobres en ácido erúxico se deben a éste o a otro factor. Han sido propuestas dos teorías:

1. Las lesiones son efecto del ácido erúxico que contienen todavía los aceites.

2. Existe un desequilibrio entre ácidos grasos saturados y monoinsaturados, que el tejido cardiaco no tolera.

Yamashiro y Clandinin (1980) realizaron un estudio ultraestructural sobre el músculo ventricular de ratas machos del género Sprague-Dawley después de 16 y 23 semanas de consumir dietas conteniendo 20% en peso de aceite de semilla de colza con bajo contenido de ácido erúxico, aceite de semilla de colza con alto contenido de ácido erúxico y aceite de semilla de soya. Las observaciones detalladas de los corazones disecados no revelaron lesiones aparentes, pero las observaciones histológicas del miocardio de los animales afectados mostraron necrosis focal de las fibras del músculo cardiaco. Las lesiones variaron de recientes a muy viejas con tejido conectivo fibroso reemplazando el área. Los corazones con lesiones necróticas frecuentemente mostraron desprendimiento de las paredes arteriolas. Ultraestructuralmente, las fibras del músculo cardiaco de los animales que consumieron aceite de semilla de soya mostraron arreglo miofibrilar normal; las mitocondrias estuvieron presentes en líneas aparentemente frecuentes entre las miofibrillas; ocasionalmente, fueron observados unos pocos lisosomas conteniendo gotitas de lípidos; estas características de los miocitos fueron similares para los tratamientos de 16 ó 28 semanas con aceite de soya. El miocardio de las ratas que consumieron aceite de semilla de colza bajo en ácido erúxico por 16 semanas, mostró una mezcla de fibras musculares cardiacas aparentemente normales y algunas fibras ligeramente degeneradas, ocasionalmente fueron vistas gotitas de lípidos cerca de las mitocondrias, alterando algunas de estas gotitas el patrón mitocondrial; en preparaciones histológicas se observó en el miocardio fibras musculares degeneradas, las cuales

presentaron necrosis focal. Las ratas que consumieron aceite de semilla de colza bajo en ácido erúxico por 28 semanas mostraron un aumento en las fibras de colágeno en las lesiones. Todos los animales que consumieron aceite de semilla de colza alto en ácido erúxico mostraron notables cambios degenerativos en el miocardio; los miocitos de las ratas que consumieron este aceite por 16 semanas presentaron muchas gotitas de lípidos; los miocitos de las ratas que consumieron este mismo aceite durante 28 semanas también presentaron gran cantidad de gotitas de lípidos, las lesiones necróticas presentaron edema y proliferación de fibras de colágeno.

Thomasson y Boldingh (1954) compararon el efecto de promover el crecimiento con aceite de semilla de mastuerzo, el cual contiene de 80 a 90% de ácido erúxico, con aquel de aceite de semilla de colza, el cual contiene cerca de 50% de ácido erúxico. El aceite de semilla de mastuerzo fue suministrado en las dietas en un nivel de 30%, mientras que el aceite de semilla de colza fue administrado en las dietas en un 30%, 40%, 50%, 60% y 73%, respectivamente. Los resultados confirman que la proporción del crecimiento de los animales disminuyó conforme el contenido de aceite de semilla de colza aumentó en las dietas. La mayor parte de los animales que comieron dietas con 73% de aceite de semilla de colza murieron, el tiempo de vida de este grupo fue de 16 días; en los otros grupos no hubo muertes. El aumento en peso de las ratas que comieron la dieta conteniendo 30% de aceite de semilla de mastuerzo estuvieron entre aquellos animales que recibieron 50 y 60% de aceite de semilla de colza, es decir, 30% de aceite de semilla de mastuerzo tiene el mismo efecto sobre el crecimiento que 57% de aceite de semilla de colza. Esta proporción está en relación con el contenido de ácido erúxico en los dos aceites. En este caso, parece altamente probable que la acción de inhibir el crecimiento de los aceites de semilla de mastuerzo y de colza es

debido a la presencia del ácido erúcico.

Norseth (1979) realizaron para ver el efecto en las ratas alimentadas por tres semanas con aceite de semilla de colza, en relación al acortamiento de la cadena del ácido erúcico en ácidos eicosenoico y oléico, en los lípidos del corazón. El ácido oléico siempre constituyó la mayor fracción de los ácidos grasos de cadena corta. El aceite de semilla de colza causó un triple aumento en la cantidad de ácidos grasos de cadena corta de los lípidos del corazón, comparado con el aceite de cacahuete (control). Se sugiere que el ácido erúcico es hidrolizado por el proceso de β -oxidación en el corazón, en el hígado y posiblemente en otros tejidos. El aumento del acortamiento de la cadena del ácido erúcico, puede ser una importante parte de un proceso de adaptación y esto explicaría, el porque la lipidosis disminuyó gradualmente en los animales que consumieron aceite de semilla de colza por tres semanas.

Kramer y Hulan (1977) estudiaron los cambios en los lípidos cardíacos de pollos alimentados con aceite de semilla de colza con diferentes niveles de ácido erúcico; para este fin utilizaron pollos machos White Leghorn, los cuales fueron alimentados con 20% en peso de aceite de semilla de soya y 20% en peso de 4 diferentes aceites de semilla de colza con diferentes niveles de ácido erúcico (0.9-22.3%) y eicosenoico (1.5-12.3%); los pollos fueron sacrificados después de tres días; 1, 2 y 4 semanas de consumir estas dietas, los niveles de grasa del corazón fueron medidos gravimétricamente. Sólo los animales alimentados con la dieta conteniendo aceite de semilla de colza alto en ácido erúcico (RSO - 22.3%) presentaron más altos niveles de grasa en el corazón, este máximo depósito de ácido erúcico y eicosenoico ocurrió en los lípidos del corazón de pollos después de 3 días de dieta y los niveles permanecieron altos durante las 4 semanas de prueba; sin embargo,

los pollos alimentados con las otras 3 dietas con aceite de semilla de colza bajo en ácido erúcico, también mostraron niveles elevados de la grasa del corazón dentro de la primera semana comparados a los pollos comiendo la dieta de aceite de semilla de soya, pero estas diferencias desaparecieron en dos semanas. Estos resultados proveen evidencia de una relación lineal entre los niveles dietéticos de estos ácidos (eicosenoico y erúcico) y la concentración relativa en los lípidos del corazón.

Se hizo una comparación de la concentración relativa de los ácidos erúcicos y eicosenoico encontrados en los lípidos del corazón de pollo que consumieron aceite de semilla de colza alto en ácido erúcico, con los encontrados en los lípidos del corazón de ratas y puercos alimentados con dietas conteniendo el mismo aceite. Se encontró que las ratas acumularon muy altos niveles de estos ácidos durante la primera semana de consumo, pero estos niveles bajaron conforme continuaron comiendo; los puercos por otro lado, incorporaron mucho más bajos niveles de estos ácidos que las ratas, y estos niveles permanecieron inalterables después de la primera semana; los pollos depositaron más ácido eicosenoico y menos erúcico que las ratas, pero depositaron más eicosenoico y erúcico que los puercos. Aunque fueron acumuladas grandes cantidades de ácidos eicosenoico y erúcico en los lípidos del corazón de los pollos que consumieron dietas conteniendo aceite de colza alto en estos ácidos, no hay evidencia de cambios histopatológicos en el miocardio que puedan ser atribuidos al aceite de semilla de colza alto en ácido erúcico y eicosenoico. Probablemente los pollos metabolizan los ácidos erúcico y eicosenoico en forma diferente a las ratas (la absorción de la grasa en la rata albina es por vía del sistema linfático, mientras que en los pollos es por vía del sistema portal del hígado al igual que en algunos tipos de ratas), posiblemente el metabolismo de las grasas en el hígado siga vías

semejantes en estos animales pero tenga ligeras modificaciones que les permitan alterar la absorción de la grasa antes de llegar al corazón, y así se justifica la ausencia de lesiones miocárdiales cuando las dietas contienen aceite de semilla de colza alto en ácido erúcido. Estos resultados contribuyen a sostener la hipótesis que el ácido erúcido no es el único agente causante de daños miocárdiales como lo postularon Abdellatif y Vies (1973).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Especificaciones del experimento

La fase experimental del presente trabajo se realizó en el Laboratorio Central de Oleaginosas del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Chapingo, México, el cual prestó sus instalaciones y proporcionó los ingredientes de las dietas, así como los reactivos para los análisis químicos de los aceites y las dietas. También colaboró en el análisis estadístico.

Colaboraron en la realización de los cortes y tinciones histológicas, prestando sus instalaciones y proporcionando los reactivos para la realización de los mismos: el Laboratorio de Fisiología del Departamento de Zootecnia de la UACH, el Laboratorio de Técnicas Histológicas Ordinarias de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Laboratorio de Anatomía y Morfología Vegetal del Centro de Botánica del Colegio de Postgraduados Chapingo, Méx.

El Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, proporcionó los animales de estudio (ratas).

3.2. Trabajo de laboratorio

3.2.1. Aceites usados

Se utilizaron los siguientes aceites: *Brassica napus* variedad Zephyr conteniendo 1.34% de ácido erúxico, *Brassica campestris* variedad Echo con 26.42% de ácido erúxico y *Zea mays* (control).

Los dos aceites de *Brassica* fueron extraídos en el laboratorio por presión mediante prensado con prensas hidráulicas, sin usar solventes; el procedimiento consiste en limpiar, triturar, calentar y exprimir a objeto de obtener una torta y aceite. Por medio del prensado el aceite residual de la torta puede ser reducido a un 4%, sin embargo, puede ser necesario dejar un 6 a un 7% del aceite residual, con el fin de evitar el uso de presiones muy altas que eleven demasiado la temperatura y afecten el valor nutricional de la harina. El aceite de maíz usado fue un aceite refinado comercialmente.

3.2.2. Análisis de los aceites

A los aceites se les hicieron las siguientes determinaciones: densidad relativa, índice de refracción e índice de yodo; mediante las metodologías del Horwitz (1975). Índice de saponificación e índice de acidez mediante las metodologías del Mehlenbacher (1977). También se determinó en el aceite el contenido de ácidos grasos con la metodología tomada del Horwitz (1975), modificada por Sevilla (1983); (ver Apéndice, Anexo 1).

3.2.3. Dietas usadas

Las dietas usadas estuvieron preparadas de la siguiente forma:

Aceite (Echo, Zephyr y <i>Zea mays</i>)	8%
Caseína (proteína)	10%
Vitaminas y minerales (premezcla)	5%
Celulosa no nutritiva	1%
Almidón (carbohidratos)	73.15%

3.2.4. Análisis en las dietas

A las dietas se les hicieron las siguientes determinaciones: contenido de aceite y humedad; mediante las metodologías del Mehlenbacher (1977). Fibra cruda mediante la metodología del Horwitz (1975). Proteína mediante las metodologías del Horwitz (1975) y Espinosa (1981). Almidón mediante la metodología de Martínez y Janovitz (1978); (ver Apéndice Anexo 2).

3.3. Diseño experimental y sujetos de estudio

Ratas blancas machos y hembras de 57 a 75 g, recién destetadas, fueron divididas en tres grupos de 9 ratas cada uno (procurando tener un peso promedio homogéneo de los animales en cada grupo). En los tres grupos las dietas estuvieron igualmente balanceadas, la diferencia consistió en los aceites usados, los cuales fueron Echo (alto en ácido erúxico) y Zephyr (bajo en ácido erúxico), el aceite control fue de maíz.

La comida y el agua fueron proporcionadas *ad libitum*, cada vez que se les administraba alimento éste era pesado, al final de cada semana se pesó el residuo para saber cuánto alimento habían consumido, además se pesaron las ratas para conocer su aumento de peso según la cantidad de alimento ingerido. Todo esto fue realizado durante 10 semanas.

A partir de la tercera semana una rata de cada grupo fue sacrificada (con cloroformo) para realizar exámenes histológicos de hígado y de corazón, y observar si las ratas que consumieron las dietas con aceite de las variedades Echo y Zephyr presentaban lesiones cardíacas y/o hepáticas, comparando los órganos de estas ratas, con los órganos de las ratas que consumieron la dieta con aceite de maíz. Todo esto fue realizado durante diez semanas.

3.4. Análisis histológico

Se sacrificaron las ratas por asfixia utilizando una campana de vidrio teniendo en su interior un algodón empapado con cloroformo, posteriormente el animal se sujeta en una charola de disección para realizar una incisión desde el borde anterior del pubis hasta el esternón, dejando expuestos los órganos de cavidades torácica y abdominal, para hacer la inspección macroscópica "in situ". Enseguida fueron separados el hígado y el corazón (órganos a estudiar) siendo ambos cortados con un bisturí en secciones transversales y longitudinales, los cortes de tejido por separado se depositaron en un recipiente conteniendo formol al 10% neutro, con la finalidad de fijar el tejido y evitar que continúen los procesos degenerativos "Postmortem", la finalidad de usar el fijador con un pH neutro es evitar la formación de precipitados de paraformaldehído que puedan alterar las imágenes vistas al microscopio óptico. El tiempo de fijación fue de 48 horas. Posteriormente a la fijación se procedió a efectuar la técnica histológica según la metodología de Lynch *et al.* (1972), (ver Apéndice, Anexo 3).

Se obtuvieron cortes de hígado y corazón de los bloques incluidos en parafina y se tiñeron con la técnica de Hematoxilina-Eosina según la metodología de Luna (1968), (ver Apéndice, Anexo 3). Las preparaciones se observaron al microscopio óptico para examinar la presencia o ausencia de alteraciones de los tejidos, en base a los resultados reportados por los investigadores antes mencionados.

Con los mismos órganos de hígado ya fijados, se hicieron cortes por congelación de 15.0 μ de grosor, para determinar cualitativamente la presencia de grasa, con la técnica de Rojo Oleoso según la metodología de Martoja (1970)

(ver Apéndice, Anexo 3); durante las 10 semanas de tratamiento.

3.5. Observación microscópica

Todas las preparaciones histológicas realizadas, se observaron en el microscopio óptico marca Carl Zeiss, con los aumentos: 20X5X10X y 40X5X10X, y se tomaron fotografías en cada uno de los casos.

3.6. Análisis estadístico

3.6.1. Se procesaron los resultados mediante un análisis de varianza por mínimos cuadrados para datos con desigual número de subclases, según el método de W. Harvey, para las variables: consumo de alimento y ganancia de peso, con un modelo de efectos fijos:

$$Y_{ij} = u + D_i + b_1X_i + b_2X_i^2 + E_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = variable dependiente o de respuesta

u = efecto de media poblacional

D_i = efecto fijo de dietas

b_1 = parámetro de regresión para efecto lineal de semanas

X_i = covariable semana para efecto lineal de semanas

b_2 = parámetro de regresión para efecto cuadrático de semanas

X_i^2 = covariable semana para efecto cuadrático de semanas

3.6.2. Se compararon las medias por medio de la prueba de Rango Múltiple de Duncan, para cada una de las variables estudiadas: consumo de alimento y ganancia de peso; lo cual hizo posible observar los grupos de significancia estadística para los tres aceites probados.

3.6.3. Se realizaron las correlaciones entre las variables estudiadas, para ver el grado de asociación que existe entre ellas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Análisis de los aceites y dietas

Estos se encuentran en el Apéndice, Cuadros 5, 6 y 7.

4.2. Análisis estadístico

Con la técnica de análisis de varianza por mínimos cuadrados para datos con desigual número de subclases, según el método de W. Harvey con un modelo de efectos fijos, se analizaron en las tres dietas las variables: consumo de alimento y ganancia de peso (Cuadros 1 y 2).

En el consumo de alimento las diferencias entre dietas fueron significativas y en la ganancia de peso altamente significativas. En las dos variables estudiadas, los efectos de covariable lineal y cuadrática, respectivamente, no son significativas, con lo cual se podría sospechar que el tiempo no tuvo influencia alguna sobre el comportamiento de las dietas.

Para consumo de alimento y ganancia de peso, se hizo la comparación de medias por medio de la prueba de Rango Múltiple de Duncan (Cuadros 3 y 4). Para consumo de alimento hay dos grupos estadísticamente diferentes; en el primer grupo las dietas con aceite de maíz y de colza con baja concentración en ácido erúico están unidas bajo el mismo grupo, es decir, no hay diferencias significativas (con cualquiera de las dos dietas los sujetos de prueba consumieron lo mismo); en el segundo grupo, las dietas con aceite de colza de baja y alta concentración en ácido erúico están unidas bajo el mismo grupo, es decir, no hay diferencias significativas (con cualquiera de las

dos dietas los sujetos de prueba consumieron lo mismo). Se obtuvieron diferencias significativas entre las dietas con aceite de maíz y de colza cuya concentración en ácido erúcico es alta, siendo mayor el consumo de la primera. En la ganancia de peso se puede observar que hay dos grupos estadísticamente diferentes; en el primer grupo sólo está incluida la dieta con aceite de maíz, donde se obtuvo la mayor ganancia de peso; en el segundo grupo las dietas con aceite de colza de baja y alta concentración en ácido erúcico están unidas bajo el mismo grupo, es decir, no hay diferencias significativas; entre estos dos grupos las diferencias fueron altamente significativas. Las diferencias significativas encontradas en el consumo de alimento y la ganancia de peso, no pueden ser debidas al ácido erúcico, puesto que en las dos dietas con aceite de colza no hubo diferencias significativas, a pesar de que la concentración de ácido erúcico es diferente; dichas diferencias significativas pueden ser debidas al aprovechamiento, es decir, no siempre se aprovecha igual todo lo que se consume. A diferencia de otros trabajos como el de Thomasson y Boldingh (1954), Kramer *et al.* (1973), quienes concluyen que el aceite de colza con ácido erúcico sobre todo el de alta concentración, muy posiblemente disminuye el ritmo de crecimiento; en este trabajo no se encontró una disminución en el crecimiento que pueda ser atribuido al ácido erúcico, lo cual puede ser debido a que la cantidad de aceite empleada en las dietas de este experimento fue más baja (8%), que la empleada por estos investigadores (20, 30, 40, 50, 60 y 73%).

También se hizo un análisis de correlación para ver el grado de asociación que existe entre las dos variables estudiadas (consumo de alimento y ganancia de peso), observándose una correlación positiva y significativa, es decir, conforme aumenta el consumo aumenta la ganancia, lo cual se --

observó en la mayoría de los animales, aunque en diferente grado, así en los sujetos que recibieron la dieta conteniendo aceite de maíz (control) requirieron menos gramos de alimento para ganar un gramo en peso; la dieta conteniendo aceite de colza cuya concentración en ácido erúxico es baja brindó menor aumento de peso por volumen consumido; y en los animales alimentados con dieta conteniendo aceite de colza cuya concentración en ácido erúxico es alta, fue la que mostró las características más deficientes ya que requirió mayor consumo de alimento por gramo de aumento de peso, comparada con las otras dos dietas.

Consumo vs Ganancia de peso $r = 0.72036$ 0.0001 **

Tomando en cuenta los resultados obtenidos con el consumo de alimento y la ganancia de peso, se considera que las dos dietas con aceite de colza de baja y alta concentración en ácido erúxico, son menos aceptadas que la dieta con aceite de maíz.

CUADRO 1. ANALISIS DE VARIANZA POR MINIMOS CUADRADOS PARA DATOS CON DESIGUAL NUMERO DE SUBCLASES, SEGUN EL METODO DE W. HARVEY

CONSUMO DE ALIMENTO

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F	
Dietas	2	1790.17	895.09	3.07	*
Semana B lineal	1	511.49	511.49	1.76	N.S.
Semana B cuadrática	1	574.25	574.25	1.97	N.S.
Error	185	53920.27	291.46		
Total	190	791797.52	4167.36		

N.S. No significativo

* Significativo

CUADRO 2. ANALISIS DE VARIANZA POR MINIMOS CUADRADOS PARA DATOS CON DESIGUAL NUMERO DE SUBCLASES, SEGUN EL METODO DE W. HARVEY

GANANCIA DE PESO

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F	
Dietas	2	2683.71	1341.86	21.89	**
Semana B lineal	1	87.31	87.31	1.42	N.S.
Semana B cuadrática	1	82.72	82.72	1.35	N.S.
Error	185	11342.25	61.30		
Total	190	31928.71	168.05		

N.S. No significativo

** Altamente significativo

CUADRO 3. COMPARACION DE MEDIAS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN. ($\alpha < 0.05$)

CONSUMO

TRATAMIENTO	No. OBS.	MEDIA	GRUPO
C	68	66.22	
B	66	60.88	
A	56	58.95	

A = Aceite de colza alto en ácido erúcico (26.42%)

B = Aceite de colza bajo en ácido erúcico (1.34%)

C = Aceite de maíz (control)

CUADRO 4. COMPARACION DE MEDIAS POR MEDIO DE LA PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN. ($\alpha < 0.05$)

GANANCIA DE PESO

TRATAMIENTO	No. OBS.	MEDIA	GRUPO
C	68	14.61	
B	66	7.26	
A	56	6.43	

A = Aceite de colza alto en ácido erúcico (26.42%)

B = Aceite de colza bajo en ácido erúcico (1.34%)

C = Aceite de maíz (control)

4.3. Análisis histológico

Se realizó el estudio histológico para la observación de alteraciones tisulares en los órganos de hígado y de corazón, que según Kramer (1973), Abdellatif y Vles (1970), el informe de la ONUAA y la OMS (1977); describen en sus trabajos que son los órganos más afectados. Los cortes de hígado y de corazón se tiñeron con la técnica de Hematoxilina-Eosina (HE). Las observaciones al microscopio óptico de estos tejidos indican un tejido sin alteraciones nucleares y citoplásmicas, no hay alteraciones tisulares, su aspecto es normal y su afinidad tintorial normal (Cuadro 8), en el hígado se observan vacuolas que posiblemente nos indican la presencia de grasa, en todas las semanas como se muestra en las Figuras 4, 5 y 6.

El análisis cualitativo de la presencia de grasa, se realizó en cortes por congelación de hígado de 15 μ de grosor, y teñidos con la técnica de rojo oleoso, durante las 10 semanas de tratamiento.

Se observó la presencia de grasa en cortes de hígado de los animales alimentados con dieta conteniendo aceite de maíz (control) y de los animales

alimentados con dietas conteniendo aceite de colza cuya concentración en ácido erúxico era baja y alta (1.34% y 26.42%, respectivamente), tal como se muestra en el Cuadro 9.

En la 3a. semana, se inició el sacrificio de los animales y en los cortes de hígado del grupo control se observa la presencia de grasa clasificada como escasa (++) , Fig. 7; asimismo en los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúxico se clasifica como escasa (++) y la dieta alta en ácido erúxico presenta mayor acumulación de grasa y se clasifica como abundante (+++), Figs. 8 y 9.

En la 5a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa un incremento en la cantidad de grasa clasificada como (+++), Fig. No. 10; mientras que en los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúxico se clasifica como (++) y en la dieta alta en ácido erúxico que se clasifica como muy abundante (+++), Figs. 11 y 12.

En la 6a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa presencia de grasa clasificada como (+++), Fig. No. 13; los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúxico se clasifican como (++) y en la dieta alta en ácido erúxico que se clasifica como (+++), Figs. 14 y 15.

En la 7a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa menor cantidad de grasa clasificada como (+), Fig. 16; a diferencia de los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúxico que se clasifica como (+++) y en la dieta alta en ácido erúxico que se clasifica como (+++), Figs. 17 y 18.

En la 8a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa la presencia de grasa clasificada como (++) , Fig. 19; en los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúxico se clasifica como (++) y en la dieta alta en ácido erúxico que se clasifica como (++) , Figs. 20 y 21.

En la 9a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa menor cantidad de grasa clasificada como (+), Fig. 22; asimismo en los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúcico que se clasifica como (++) y en la dieta alta en ácido erúcico que se clasifica como (++) , Figs. 23 y 24.

En la 10a. semana, en los cortes de hígado del grupo control se observa presencia de grasa clasificada como (++) , Fig. 25; a diferencia de los cortes de hígado con dieta baja en ácido erúcico que se clasifica, como (++) y en la dieta alta en ácido erúcico que se clasifica como (++) , Figs. 26 y 27.

El hígado del grupo alimentado con aceite de colza alto en ácido erúcico fue el único que alcanzó la clasificación de muy abundante (++++) durante el periodo de experimento.

En todos los cortes estudiados, la distribución de grasa se localiza en el citoplasma de los hepatocitos de todas las ratas tratadas con los tres aceites. Con el aceite control tiende a distribuirse en todo el tejido. Con aceite de colza bajo en ácido erúcico su distribución es semejante a la dieta control, pero su acumulación es cerca de las venas y arterias. Con aceite de colza alto en ácido erúcico tiende a concentrarse en su mayor parte cerca de las venas y arterias; a partir de la 7a. semana de tratamiento, la grasa se empieza a distribuir en todo el tejido; sin embargo, sigue siendo mayor cerca de las venas y las arterias.

La forma de las gotas de grasa varía según el aceite utilizado. Con el aceite control, por lo general son grandes y de forma irregular, aunque también se observan pequeñas y de forma regular. Con aceite de colza con baja y alta concentración en ácido erúcico son por lo general, pequeñas y de forma regular, aunque también hay grandes y de forma irregular.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el Cuadro 9; se puede decir, que con el aceite control, la grasa que se acumula en el citoplasma de los hepatocitos varía con el tiempo, siendo un poco más baja que la grasa que se acumula con los aceites de colza, que disminuye a partir de la octava semana de tratamiento, lo cual quiere decir que el aceite control (maíz) se metaboliza mejor. Con las dos dietas con aceite de colza, la acumulación de grasa en el citoplasma de los hepatocitos es parecida, en las tres primeras semanas la acumulación de grasa es mayor con el aceite de colza con alta concentración en ácido erúxico, en las demás semanas la cantidad de grasa disminuye en la misma cantidad en ambos aceites de colza y se hace similar al aceite control; es decir, hay una normalización, posiblemente haya una adaptación enzimática para el acortamiento de la cadena, tal como se observa en el trabajo realizado por Norseth *et al.* (1979), etc., que se mencionó anteriormente.

Thomasson y Boldingh (1954), Kramer *et al.* (1973) el informe de la ONUAA y la OMS (1977) observan que una dieta con aceite de colza conteniendo ácido erúxico sobre todo el de alta concentración disminuye el ritmo de crecimiento. En el presente trabajo se puede observar que con la dieta con aceite de maíz, la cantidad de grasa acumulada es un poco más baja y la ganancia de peso es mayor comparada con las dos dietas con aceite de colza (Fig. 28). Con estas dos dietas con aceite de colza la cantidad de grasa acumulada es parecida y en la ganancia de peso no hay diferencias significativas. Esto puede posiblemente ser debido a que aún cuando la concentración de ácido erúxico no es la misma, la cantidad de aceite en las dietas es muy baja (8%) y entonces el efecto de los dos aceites es el mismo.

Con las dietas con aceite de maíz y de colza con baja y alta concentración en ácido erúxico, se observa en el corazón, con la técnica de Hematoxilina-Eosina (HE), poca cantidad de vacuolas que posiblemente nos indican la

presencia de grasa (Figs. 2, 2 y 3), pero siempre fue similar en las tres dietas. A diferencia de otros trabajos, la dieta de los animales de este experimento tuvo 8% de aceite, y quizá por ello, estos investigadores con dietas con mayor concentración de aceite y de ácido erúxico, pudieron observar incluso necrosis en el tejido cardíaco. Por ejemplo, Abdellatif y Vles (1970), indican que las ratas que consumieron una dieta con 30% de aceite de semilla de colza, conteniendo 46% de ácido erúxico por 2, 4, 8 y 16 semanas, mostraron infiltración de grasa en el corazón, músculo esquelético y adrenales. Después de unas pocas semanas la infiltración de grasa en el músculo esquelético y en el corazón disminuyó, el músculo esquelético recobró su morfología normal, pero en el corazón se observó una proliferación focal de células mononucleares y un aumento progresivo en el tejido conectivo, la menor infiltración de grasa se presentó en ratas que consumieron una dieta con 20% de aceite de semilla de colza. La infiltración de grasa en el corazón y en el músculo esquelético, por el aceite de semilla de colza, puede deberse a la incapacidad de estos órganos para oxidar el ácido erúxico. La progresiva disminución de la infiltración de grasa cuando el régimen dietético se mantiene, indica una cierta adaptación, lo cual también sucede con el crecimiento. Beare *et al.* (1963), mostraron que ambos, el exceso de ácido erúxico y la deficiencia de ácido palmítico, en el aceite de semilla de colza contribuyen al pobre crecimiento de las ratas que consumieron este aceite.

Carroll (1966), encontró que el ácido erúxico es más lentamente metabolizado en el hígado, que el ácido oléico, y se acumula como un ácido graso libre; concluye que la oxidación de los ácidos grasos disminuye con el aumento de la longitud de la cadena.

Cuadro 8 Se describen los resultados cualitativos de los tejidos de hígado y corazón teñidos con H.E., de ratas alimentadas con tres dietas: una con aceite de maíz (control) y dos con aceite de colza; variedad Zephyr (*Brassica napus*, 1.34 ac. erúlico) y variedad Echo (*Brassica campestris*, 26.42 ac. erúlico).

Semanas de tratamiento.	Alteraciones celulares	Dietas					
		Maíz		Zephyr		Echo	
		H	C	H	C	H	C
3a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuollización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
5a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
6a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
7a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
8a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
9a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-
10a.	Cariolisis	-	-	-	-	-	-
	Cariorrexis	-	-	-	-	-	-
	Vacuolización	+	+	+	+	+	+
	Deformación citoplásmica	-	-	-	-	-	-

H = Hígado

C = Corazón

- = No se observa

+ = Si se observa

Cuadro 9 Se describen los resultados histológicos cualitativos de cortes por congelación de hígado, teñidos con la técnica de Rojo Oleoso para demostrar la presencia de grasa, en ratas alimentadas con tres dietas: una con aceite de maíz (control) y - dos con aceite de colza; variedad Echo (Brassica campestris, 26.42 %) y variedad Zephyr (Brassica napus, 1.34 %).

Semanas de tratamiento	Dietas:	Control Maíz	Baja Zephyr	Alta Echo
3a.		++	++	+++
5a.		+++	++	++++
6a.		+++	++	+++
7a.		+	+++	+++
8a.		++	++	++
9a.		+	++	++
10a.		++	++	++

Escala cualitativa de la cantidad de grasa acumulada.

Muy escasa	+
Escasa	++
Abundante	+++
Muy abundante	++++

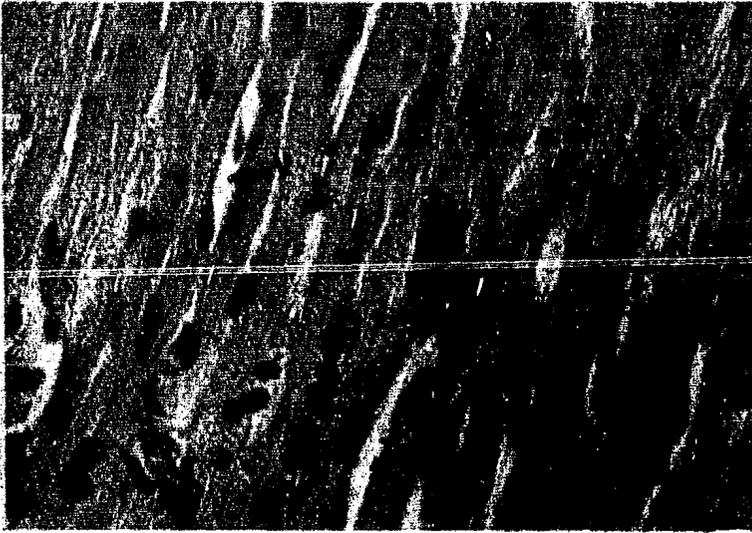


Fig. 1. Morfología normal de corazón, 10a. semana control. Ligera vacuolización (V) Hematoxilina-Eosina, (HE). 40X5X10X Núcleos (N)

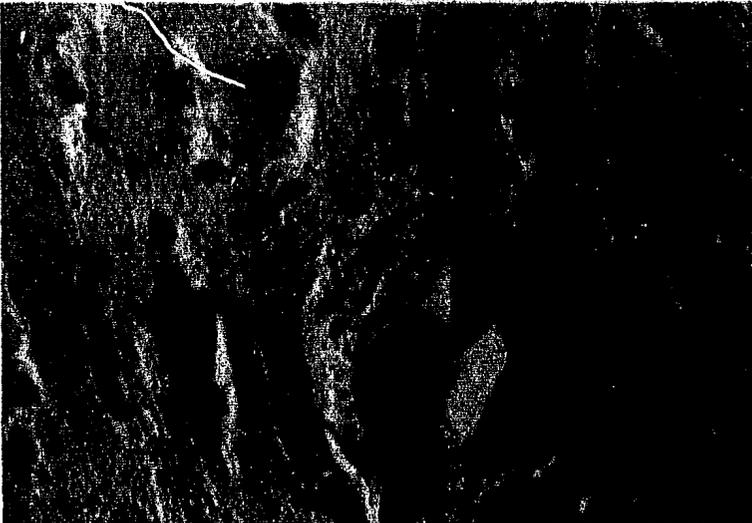


Fig. 2. Morfología normal de corazón, 10a. semana, baja en ácido erúxico. Ligera vacuolización (V) (HE) 40X5X10X Núcleos (N)



Fig. 3. Morfología normal de corazón, 10a. semana, alta en ácido erúxico. Mayor vacuolización (V) (HE) 40X5X10X Núcleos (N)

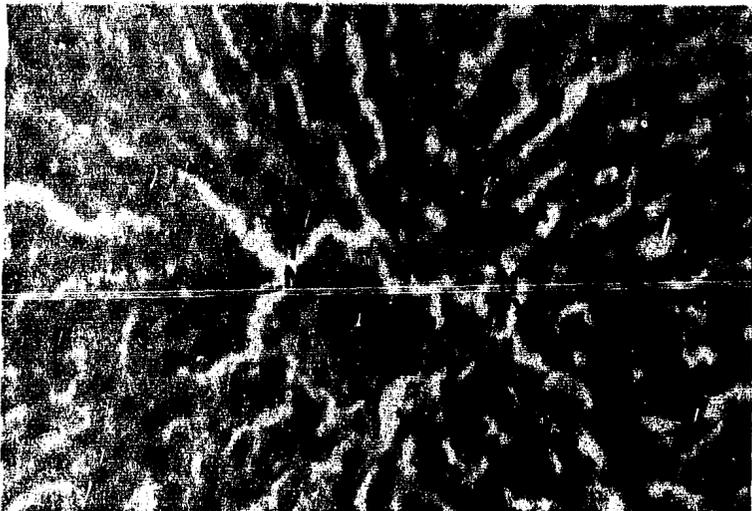


Fig. 4. Morfología normal de hígado, 10a. semana control (HE)
20X5X10X
Núcleos (N)

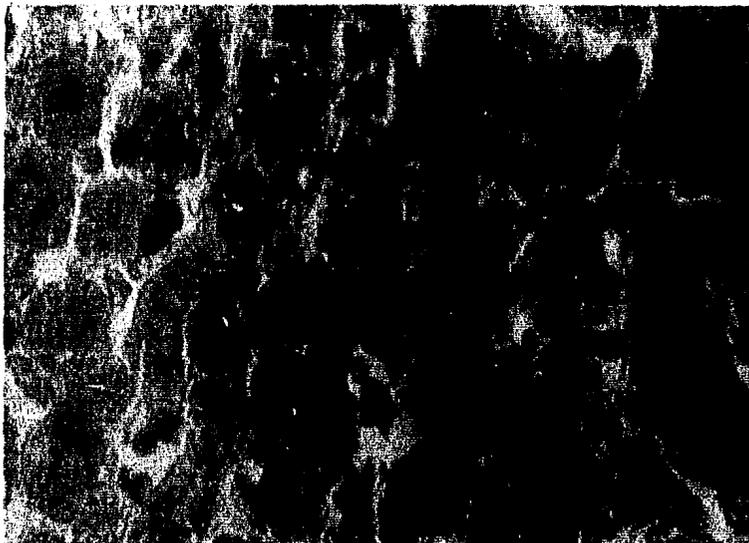


Fig. 5. Morfología normal de hígado, 10a. semana, baja en ácido erúxico (HE)
40X5X10X
Núcleos (N)

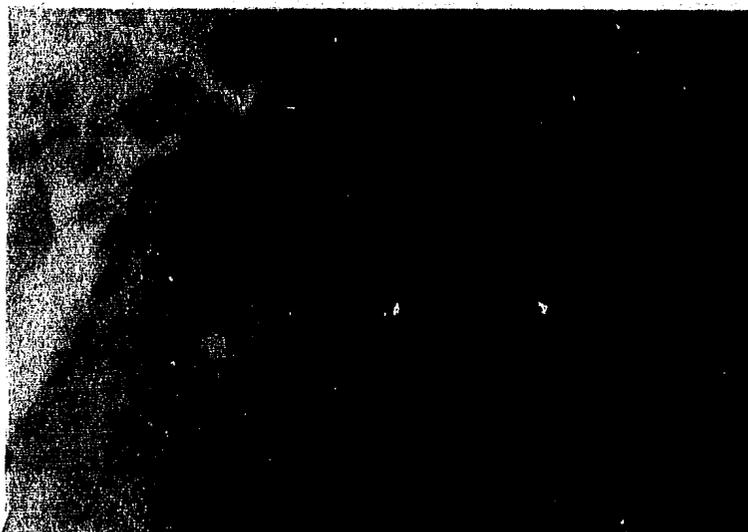


Fig. 6. Morfología normal de hígado, 10a. semana, alta en ácido erúxico (HE)
40X5X10X
Núcleos (N)

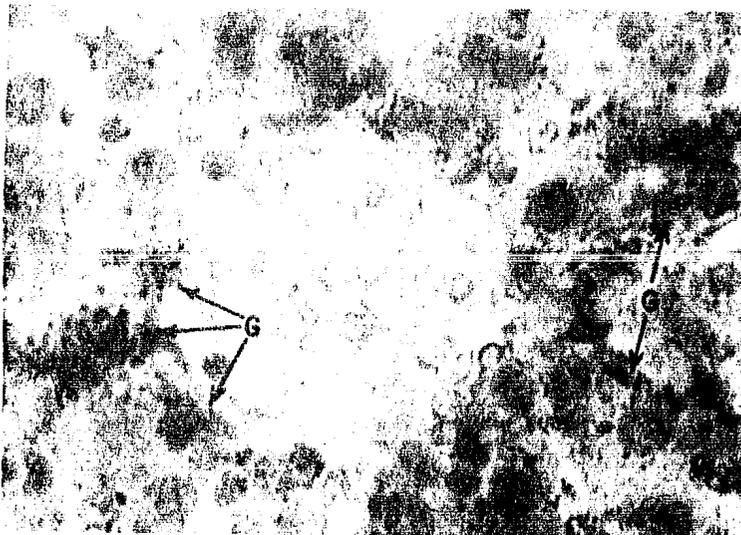


Fig. 7. Acumulación de
grasa en hígado (++)
3 a. semana control,
Rojo Oleoso (RO)
40X5X10X
Grasa (G)

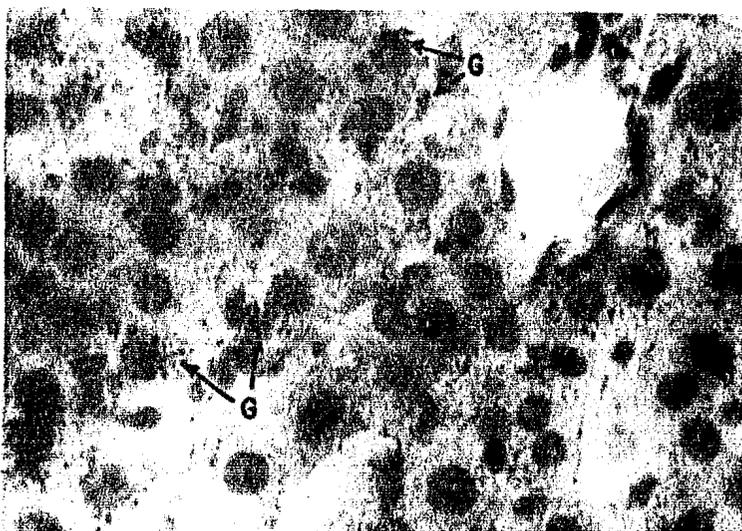


Fig. 8. Acumulación de
grasa en hígado (++)
3a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)



Fig. 9. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
3a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G), Núcleo (N)

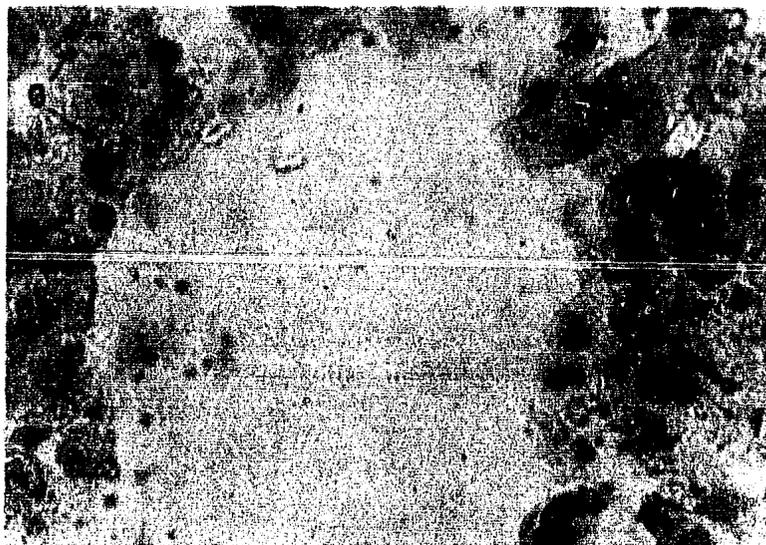


Fig.10 Acumulación de
grasa en hígado (+++),
5a. semana control,
(RO). 40X5X10X
Grasa (G)



Fig. 11. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
5a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)



Fig. 12. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
5a. semana, alta en
ácido erúcico.(RO)
40X5X10X
Grasa (G)

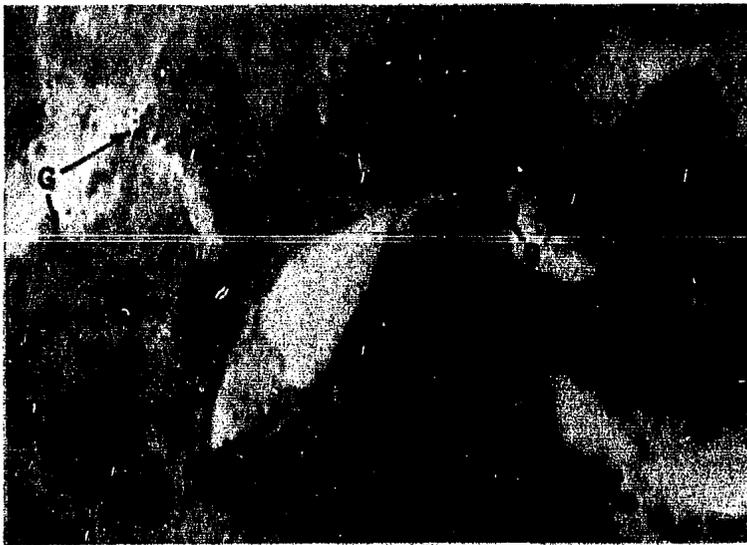


Fig. 13. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
6a. semana control,
(RO)
40X5XIOX
Grasa (G)

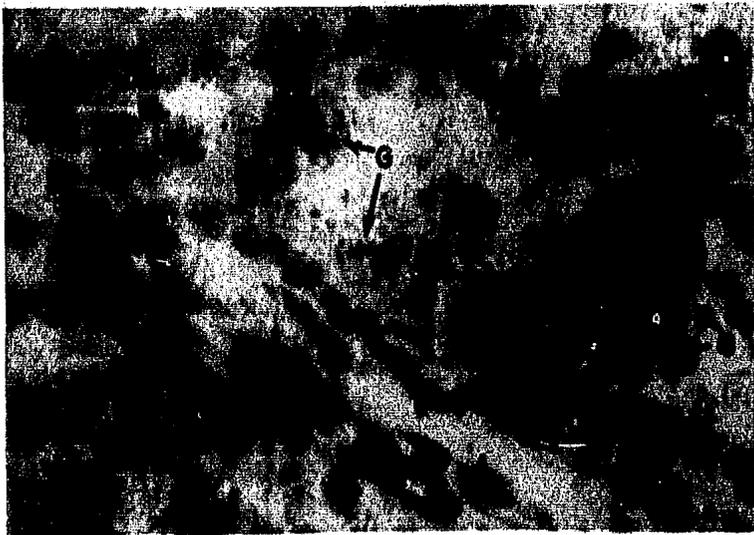


Fig. 14. Acumulación de
grasa en hígado (++)
6a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5XIOX
Grasa (G)

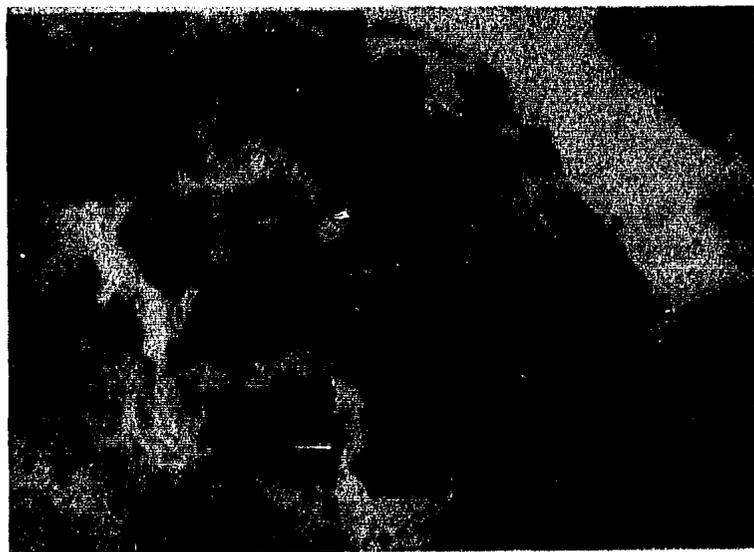


Fig. 15. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
6a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5XIOX
Grasa (G)



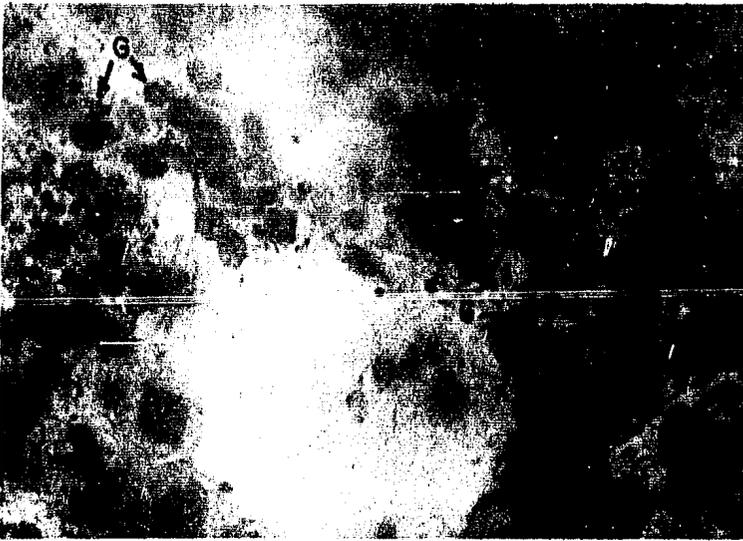
Fig. 16. Acumulación de
grasa en hígado (+),
7a. semana control,
(RO)
40X5X10X
Grasa (G)



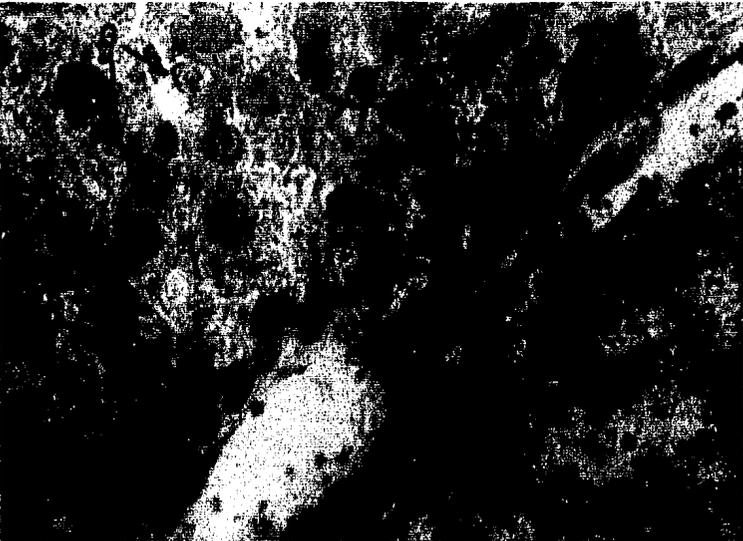
Fig. 17. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
7a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)



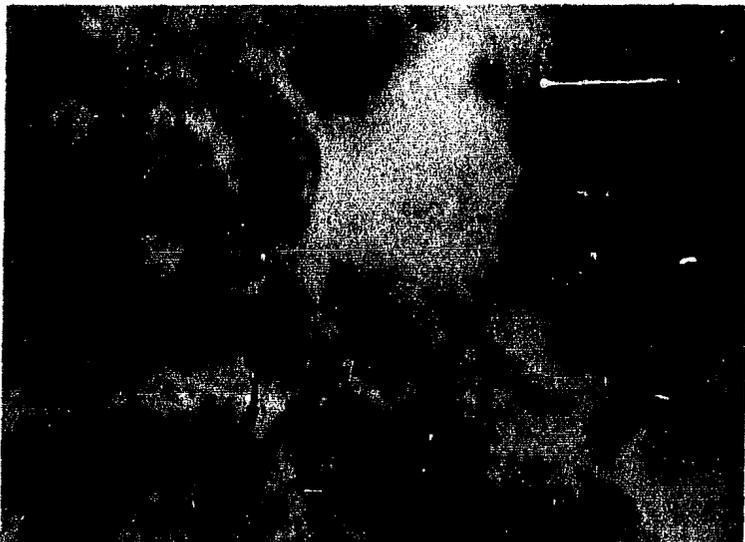
Fig. 18. Acumulación de
grasa en hígado (+++),
7a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)



**Fig. 19. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
8a. semana control,
(RO)
40X5X10X
Grasa (G)**



**Fig. 20. Acumulación de
grasa en hígado (++)
8a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)**



**Fig. 21. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
8a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)**

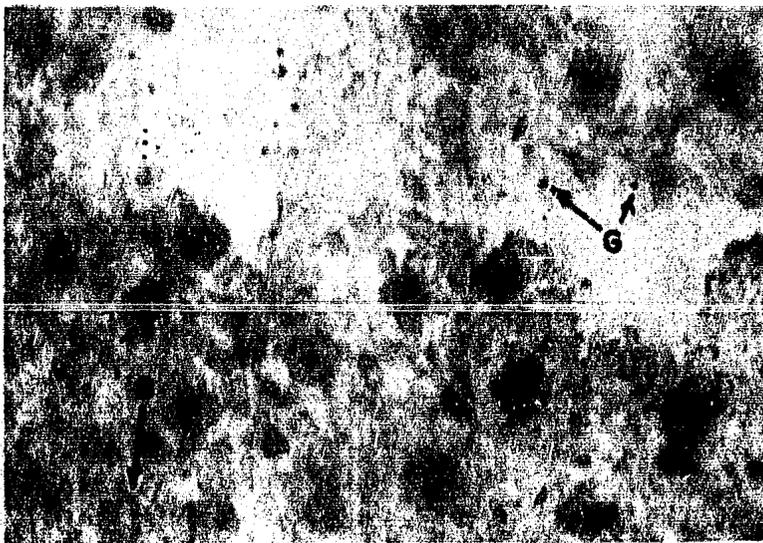


Fig. 22. Acumulación de
grasa en hígado (+),
9a. semana control,
(RO)
40X5X10X
Grasa (G)



Fig. 23. Acumulacion de
grasa en hígado (++) ,
9a. semana, baja en
ácido erúcico (RO),
40X5X10X
Grasa (G)

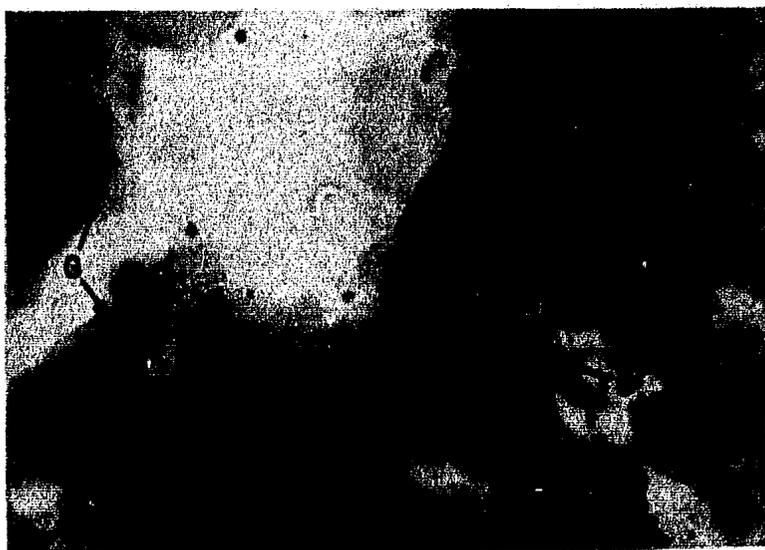


Fig. 24. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
9a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)

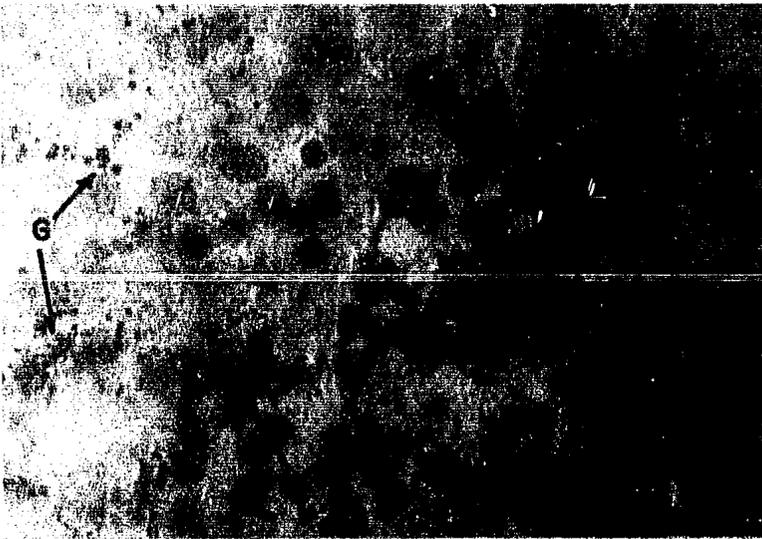


Fig. 25. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
10a. semana control,
(RO)
40X5X10X
Grasa (G)



Fig. 26. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
10a. semana, baja en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)

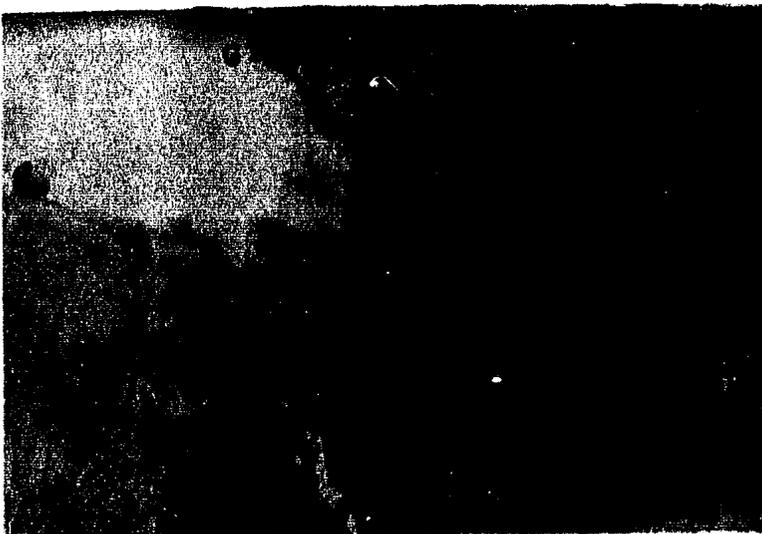


Fig. 27. Acumulación de
grasa en hígado (++) ,
10a. semana, alta en
ácido erúcico (RO)
40X5X10X
Grasa (G)

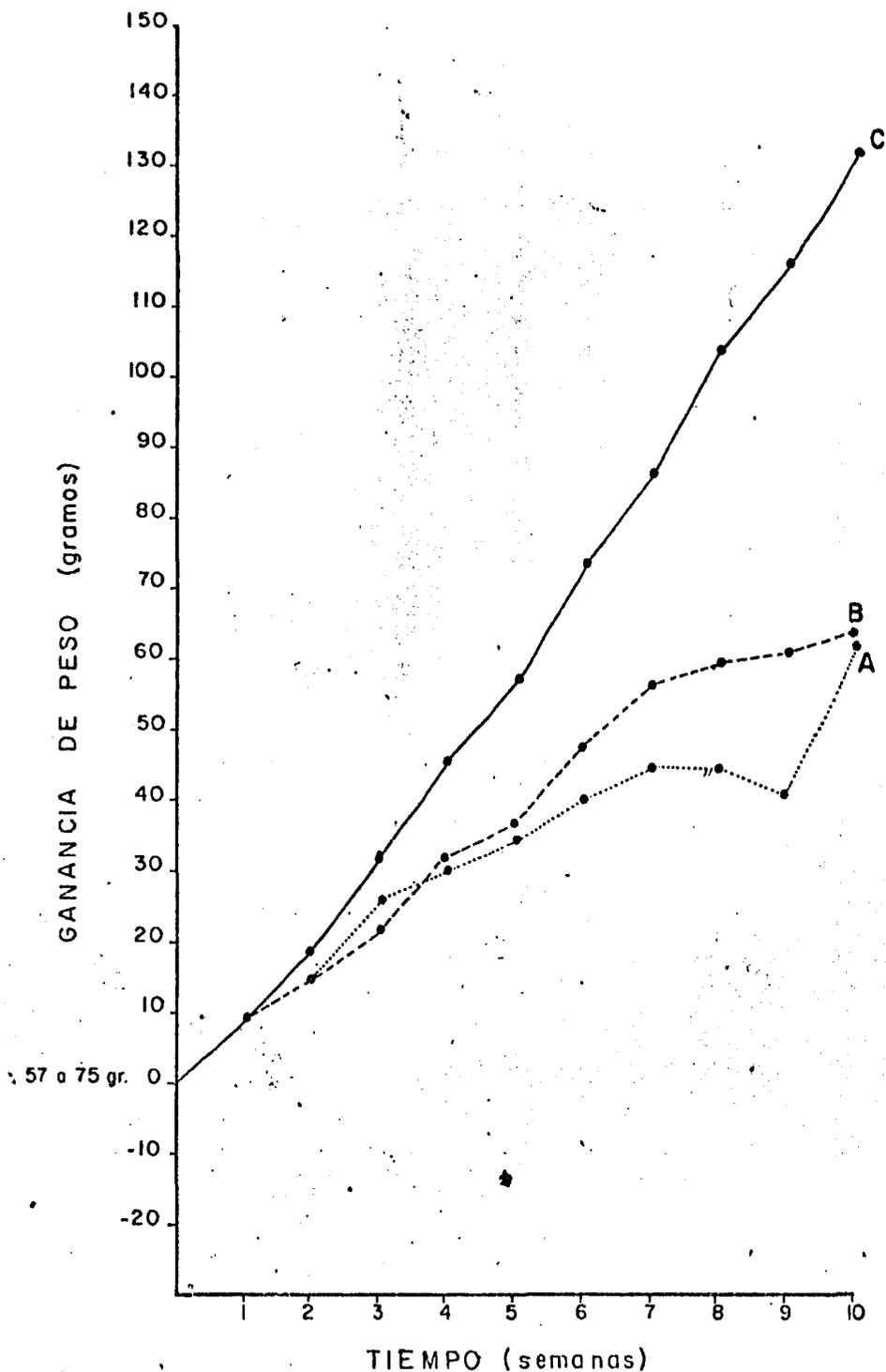


Figura 28 - Curvas de crecimiento obtenidas con dietas proporcionadas a ratas, con 8% de aceite de maíz (control), y 8% de aceites de colza con dos diferentes concentraciones de ácido erúxico.

- A: Aceite de colza con alta concentración en ácido erúxico (26.42 %).
- B: Aceite de colza con baja concentración en ácido erúxico (1.34 %).
- C: Aceite de maíz (control).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos aceites de colza, el grupo alimentado con el aceite de bajo contenido en ácido erúcico, presentó mejores consumos de alimento y ganancia de peso, por lo que posiblemente en un futuro este aceite pueda ser administrado en niveles bajos en la dieta humana.

2. Aún cuando la ganancia de peso con ambos aceites de colza es más baja que con la dieta de aceite de maíz (control); la cantidad de grasa acumulada en el citoplasma de los hepatocitos es parecida en ambas dietas de aceite de colza y conforme pasa el tiempo, dicha grasa empieza a disminuir y se hace similar a la cantidad de grasa acumulada con la dieta de aceite de maíz; además no hubo alteraciones nucleares ni citoplásmicas y mucho menos necrosis.

3. Con estos dos aceites en un nivel de 8% en la dieta, se obtuvo menos problemas, comparando estos resultados con los obtenidos por Thomasson y Boldingh (1954), Kramer *et al.* (1973), Abdellatif y Vles (1970), etc., quienes administraron el aceite de colza con baja y alta concentración en ácido erúcico, en un porcentaje mayor en la dieta.

4. Es difícil extrapolar respecto al consumo humano puesto que muy posiblemente exista una vía metabólica diferente que permita su utilización ya que como reporta Robles (1980) la digestibilidad es de un 98 a 99% comparado con apenas un 70% en ratas, lo que daría una menor acumulación de este producto en tejidos. Debido a esto se considera aún más la posibilidad

de que el aceite de colza bajo en ácido erúxico pueda ser utilizado para consumo humano, y de esta manera se podría ayudar a disminuir el déficit de oleaginosas que enfrenta el país.

5. Se sugiere que se realice más investigación acerca de estos aceites, para poder confirmar los efectos antes mencionados (estadísticos e histológicos). Por lo tanto no se pueden obtener conclusiones definitivas, puesto que este estudio es preliminar y debe ser continuado. Sin embargo, nos da idea de cómo responde un organismo animal al ser alimentado con aceite de colza, en un nivel bajo en la dieta, con dos diferentes concentraciones de ácido erúxico (1,34% y 26,42%).

A P E N D I C E

A P E N D I C E

Anexo 1

1. Metodologías de los análisis en los aceites

1.1. Determinación de densidad relativa

Definición: Densidad relativa es la relación del peso de un volumen de terminado de aceite a determinada temperatura, con el peso del mismo volumen de agua a temperatura igual.

Material:

- Pignómetro de vidrio con termómetro
- Balanza analítica de precisión
- Estufa de secado

Técnica:

1. Se lava muy bien el pignómetro, se enjuaga con agua destilada varias veces y después con alcohol. Se pasa a secar a la estufa a 105°C por dos horas para tenerlo a peso constante.
2. Se pasa al desecador para mantener a temperatura ambiente.
3. Se pesa el pignómetro ya seco, se anota su peso exacto.
4. Se llena el pignómetro con agua destilada previamente fría, después se ajusta el termómetro a 20°C y se pesa.

5. Con el pignómetro limpio y seco se llena de aceite previamente enfriado, se ajusta la temperatura a 20°C y se pesa.

Reactivos:

- Agua destilada
- Alcohol etílico absoluto

Calculos:

Peso del pignómetro + agua a 20°C, menos

Peso del pignómetro vacío/peso del agua a 20°C

Peso del pignómetro más aceite a 20°C, menos

Peso del pignómetro vacío/peso del aceite a 20°C

Densidad relativa = Peso del aceite a 20°C/Peso del agua a 20°C

1.2. Determinación del índice de refracción

Definición: El índice de refracción de una sustancia dada es la relación de la velocidad de un rayo de luz en el vacío, a la velocidad de un rayo de luz que atravieza dicha sustancia, pero siempre se utiliza la del aire como patrón en vez del vacío.

El índice de refracción se expresa por la ecuación:

$$\frac{\text{Seno del ángulo de incidencia}}{\text{Seno del ángulo de refracción}} = n$$

Por lo tanto, el índice de refracción se ha definido como una constante de composición a una temperatura y longitud de onda determinada.

Material:

- Refractómetro abbe con termómetro
- Alcohol etílico absoluto para limpiar

Técnica:**a) Calibración del refractómetro**

1. Se coloca el cristal que tiene anotado el índice de refracción exacto.
2. El cristal va adherido con aceite de bromonaftalina especial que cada refractómetro de este tipo tiene.
3. Se coloca la escala exactamente en el índice de refracción que el cristal tiene indicado.
4. Se confirma si coinciden los campos.
5. En caso de que no sea así se ajusta en el tornillo especial con la llave que cada refractómetro trae consigo.

b) Lectura de la muestra

1. La muestra de aceite debe estar pura, transparente, libre de residuo y de solventes.
2. Se ajusta la temperatura del refractómetro a la temperatura deseada.
3. Se ponen varias gotas de aceite en el prisma inferior.
4. Se juntan los prismas y apretarlos firmemente con la cabeza del tornillo.

5. Se deja en reposo un minuto, hasta que la muestra alcance la temperatura del aparato.
6. Se ajusta el aparato, la iluminación del refractómetro para que la lectura sea lo más clara posible.
7. Una vez diferenciados los campos se ve la escala.

Reactivos:

- Alcohol de 95% y aceite de bromonaftalina

Calculos:

Se toma la lectura que en la escala nos indica como índice de refracción.

1.3. Determinación del índice de yodo (según el método de Hanus)

Principio: La determinación del índice de yodo en grasas que contienen enlaces dobles aislados se basan en la absorción del halógeno bajo condiciones elegidas, para provocar resultados estequiométricos. Como agentes de halogenación se emplean corrientemente el yodo, el monoclóruo y el monobromuro, aunque los resultados se expresen en términos de yodo (centigramos de yodo por gramos de grasa). El procedimiento general implica la adición de un exceso de halógeno de la muestra, reducción de este exceso con yoduro potásico y por último valoración con solución tipo de tiosulfato, empleando almidón como indicador.

Material:

- Matraces de yodo de 500 ml
- Bureta graduada de 50 ml
- Pipetas volumétricas de 25 ml

- Pipetas graduadas de 10 y 20 ml
- Probetas graduadas de 100 ml

Técnica:

1. Se pesa en un matraz de yodo de 500 ml, limpio y seco, 0.250 g de aceite.
2. Se disuelve en 10 ml de cloroformo.
3. Se adiciona con pipeta volumétrica 25 ml de solución de Hanus.
4. Se toma el tiempo a partir de que se agrega la solución de Hanus, y se deja reposar en un lugar obscuro durante 30 minutos, agitando ocasionalmente.
5. Se agrega 10 ml de solución de yoduro de potasio al 15%.
6. Se agita suavemente.
7. Se adiciona 100 ml de agua libre de CO₂, lavando el tapón y las paredes del matraz.
8. Se titula con solución de tiosulfato de sodio 0.1 normal, agitando constantemente hasta que la solu--ción amarilla se torne incolora.
9. Se agrega después 0.5 ml de solución de almidón.
10. Si aparece coloración azul se sigue titulado hasta que sea incolora.
11. Se lleva blanco desde el principio.

Preparación de reactivos:

1. Solución de Hanus. Se puede preparar según el método 28019 del A.O.A.C., para evitar pérdidas de tiempo, se adquiere la que venden preparada comercialmente.
2. Cloroformo, Grado reactivo.
3. Solución de yoduro potásico al 15%, se disuelven 15 g de yoduro de potasio en agua destilada y se afora a 100 ml.
4. Tiosulfato de sodio 0.1 normal. Se diluyen 100 ml de solución de tiosulfato sódico 1 normal a 100 ml con agua destilada.

Cálculos:

$$\text{Número de yodo} = (B - S) (N) (12.69)/W$$

B = ml de tiosulfato 0.1 N que gastó el blanco

S = ml de tiosulfato de 0.1 N que gastó el problema

N = normalidad del tiosulfato

12.69 = g de tiosulfato equivalentes por ml

1.4. Determinación del índice de saponificación

Principio: El término saponificación significa la hidrólisis de un éster para dar el correspondiente alcohol y ácido o sal. Aplicado a las grasas, denota la reacción entre álcali y grasa, dando como resultado la formación de jabón (sal alcalina de ácidos grasos) y glicerina. La saponificación significa también la hidrólisis de una grasa de cualquier modo. El índice de saponificación, llamado a veces número de saponificación, es una medida de la cantidad de álcali requerida para saponificar un determinado peso de grasa, y generalmente, viene expresado como el número de miligramos de hidróxido

potásico necesario para saponificar un gramo de grasa. El índice de saponificación está relacionado con el peso molecular medio de la grasa.

Material:

- Matraces
- Refrigerantes
- Bureta graduada de 50 ml
- Pipeta volumétrica de 1 ml
- Parrilla eléctrica
- Papel filtro

Técnica:

Se filtra el aceite a través de papel filtro, para eliminar cualquier impureza. Se pesa una cantidad tal de muestra (por lo general 4 a 5 g), que la valoración en retorno sea del 45% al 55% del valor del blanco; es decir, debe haber un exceso de aproximadamente el 100% de hidróxido potásico. Se añade 50 ml de este álcali en solución alcohólica con una pipeta y se deja que ésta escurra durante un tiempo definido. La cantidad de reactivo se puede reducir a 25 ml en el caso de que la cantidad de muestra se reduzca a 2-2.5 g, de forma que se mantenga el mismo exceso de álcali, sin embargo, se prefiere casi siempre la muestra de mayor pesada. Se preparan y realizan simultáneamente determinaciones en blanco, juntamente con la muestra, y similar en todos los detalles. Se acoplan refrigerantes de reflujo de agua y se hierve suave pero constantemente, hasta que el aceite esté completamente saponificado. Esto por lo general, requiere unos 30 minutos pero es aconsejable

continuar durante 1 hora para asegurarse que la reacción ha sido completa. Se debe tener cuidado de que los anillos de vapor no alcancen la parte alta de los refrigerantes para que no haya pérdidas de ésteres de bajo punto de ebullición. Después se dejan enfriar los matraces y los refrigerantes, se lavan las partes internas de los refrigerantes con un poco de agua destilada. Se separan los matraces, se añade cerca de 1 ml de indicador (fenolftaleína al .1% alcohol etílico) y se valora con ácido clorhídrico 0.5 N hasta que desaparezca el color rosa.

Preparación de reactivos:

1. Alkali en solución alcohólica. Se prepara hidróxido potásico alcohólico por disolución de 40 g de hidróxido potásico (grado reactivo), en un litro de alcohol etílico absoluto. Esta solución debe quedar clara.
2. Indicador. El punto final de la valoración se determina por lo general, visualmente, empleando la fenolftaleína como indicador.

Cálculos:

Índice de saponificación = $28.05 \frac{(\text{ml de HCl gastados en el blanco} - \text{ml de HCl gastados en la muestra})}{\text{peso de la muestra}}$.

1.5. Determinación del índice de acidez en aceites vegetales (método volumétrico)

Principio: El índice de acidez se define como el número de miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres

de un gramo de aceite.

Material:

- Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- Pipeta volumétrica de 50 ml
- Pipeta graduada de 1 ml
- Bureta graduada de 10 ml

Técnica:

1. Se pesan 7.05 g de aceite en un matraz Erlenmeyer.
2. Se agregan 50 ml de alcohol (neutralizado previamente con hidróxido de sodio 1 N al primer rosa pálido con fenolftaleína .5 ml como indicador).
3. Se titula con hidróxido de sodio 0.25 N al primer color rosa pálido.
4. Los mililitros gastados dan directamente el porcentaje de ácidos grasos libres, expresados a ácido oléico.

Preparación de reactivos:

1. Alcohol etílico absoluto grado analítico
2. Solución de hidróxido de sodio 1 N
3. Solución de hidróxido de sodio 0.25 N
4. Solución indicadora de fenolftaleína al 0.1%

Se disuelven 100 miligramos de fenolftaleína en 100 ml de alcohol etílico al 96%.

Cálculos:

Se reporta en porcentaje los mililitros gastados en la titulación.

En el aceite de semillas no maduras es mayor el índice de

acidez. En los aceites comestibles no debe ser superior al 2%.

1.6. Análisis de ácidos grasos utilizando metilato de sodio como agente esterificante

Principio: En la separación por cromatografía de gases es necesario que los componentes en este caso ácidos grasos, se encuentren en su forma más volátil es decir, en forma de ésteres metílicos, reacción que se efectúa al tratar el aceite de semillas oleaginosas con una solución al 14% de metilato de sodio.

Material:

- Cromatógrafo de gases modelo 3700 Varian
- Detector de ionización de flama
- Columnas DEGS (Dietilen glicol succinato 80/20 Cromosob W.)
- Gas acarreador, nitrógeno
- Agitador magnético para tubos de ensaye
- Agitadores de varilla de vidrio
- Tubos de ensaye con tapón de baquelita
- Microjeringa de 10 microlitros
- Tubos de ensaye

Técnica:

1. Se depositan aproximadamente 5 g de muestra sólida en un tubo de ensaye.
2. Se agregan 5 ml de hexano y se agita con ayuda del agitador mecánico.

3. Se transfiere a un segundo tubo de ensaye el líquido sobrenadante filtrando a la vez.
4. Se agregan 5 ml de solución de metilato de sodio al 14%. Se agita mecánicamente por 15 segundos.
5. Se deja reposar la solución durante 10 minutos mínimo.
6. Se inyecta al cromatógrafo de gases, en las condiciones mencionadas, 2 microlitros de muestra.

Preparación de reactivos:

1. Hexano destilado a grado Uvasol. El hexano grado analítico se puede destilar a través de sulfato de sodio anhidro.
2. Metanol. Se pesa el metanol grado analítico a través de sulfato de sodio anhidro.
3. Metilato de sodio al 14%: Se pesan 140 g de metilato de sodio y se diluyen en 600 ml de metanol, se transfiere a un matraz volumétrico de 1000 ml y se afora.

Cálculos:

1. Se mide la altura de cada uno de los picos obtenidos.
2. A la mitad de la altura se mide el ancho de cada pico.
3. Se multiplica entre sí altura por ancho, para cada uno de los picos será igual a: A, B, C, ver ejemplo.
4. Se hace la suma de los productos obtenidos será igual a T.

5. Se relaciona el producto total (T), que corresponderá al 100% con cada subproducto obtenido.

Ejemplo:

$$1. A \times h = A \quad A \times 100/T = \% A$$

$$2. A \times h = B \quad B \times 100/T = \% B$$

$$3. A \times h = C \quad C \times 100/T = \% C$$

$$A + B + C = T$$

Anexo 2

2. Metodologías de los análisis en las dietas

2.1. Determinación del contenido de aceite

Material:

- Estufa de secado
- Papel filtro

Técnica:

Se pesan 2 g de muestra pulverizada y bien mezclada. Se coloca la muestra en un papel filtro (150 mm) y posteriormente en un dedal de celulosa. El dedal se introduce en un tubo Butt y se extrae el aceite con 25 ml de éter etílico, en una proporción de condensación de por lo menos 150 gotas por minuto. Se continúa la extracción durante 5 horas. Esencialmente se extraen en las 5 horas, todo el material soluble en éter, siempre y cuando la muestra pulverizada esté lo suficientemente fina al principio. Se evapora el disolvente aplicando temperatura; el residuo se seca durante 30 minutos a 100-105°C en una estufa. Se enfría y pesa.

$\%$ de aceite = peso del residuo x 100/peso de la muestra

Fórmula del aceite para pasarlo a base seca:

$\%$ de aceite x 100/100 - $\%$ de humedad

2.2. Determinación de la humedad

Principio: Los métodos de estufa al vacío se aplican prácticamente a todas las grasas y aceites. Con la humedad van incluidas todas las sustancias que sean volátiles en las condiciones del secado aunque en general, se elimina menos materia volátil durante el secado en una estufa de vacío que en una estufa de aire o secada en placa caliente.

Técnica:

Se pesan exactamente alrededor de 5 g de muestra, en una cápsula de humedad tarada, provista de tapa deslizante muy ajustada, que previamente se haya secado (en una estufa a 100°C durante 2 horas) y enfriado en un desecador. Se deseca a peso constante en una estufa a 100°C durante 2 horas. Se retira la caja de la estufa, se enfría en un desecador a temperatura ambiente y se pesa. Puede suponerse alcanzado un peso constante cuando la pérdida no excede de 0.05% en períodos de una hora de secado.

% de humedad y materia volátil = $(\text{peso de la caja} + \text{muestra} - \text{humedad}) - (\text{peso de la caja} + \text{muestra}) / \text{peso de la muestra}$

2.3. Determinación del contenido de fibra cruda

Principio: Se da el nombre de fibra cruda a la celulosa y hemicelulosa estos compuestos generalmente no son desdoblados y absorben en el organismo humano y en el de algunos animales (no rumiantes). Para la cuantificación del contenido de celulosa en material vegetal se efectúan dos digestiones drásticas (una alcalina y otra ácida) con el fin de eliminar compuestos como azúcares, proteína, etc., finalmente el residuo una vez eliminada la humedad se pesa.

Material:

- Equipo digestor Labbconco

Técnica:

1. Se pesan 2 g de muestra molida y sin grasa, se depositan en un vaso de Berzelius de 600 ml.
2. Es recomendable se lleve un blanco con 2 g de asbesto (cekite) lavado previamente con agua destilada. Si no se efectuara utilizar solamente el papel filtro previamente pesado.
3. Se agregan 200 ml de solución de ácido sulfúrico caliente, perlas de ebullición y 5 gotas de antiespumante.
4. Se efectúa la digestión durante 30 minutos a partir de la ebullición (girando el vaso en ocasiones para evitar que el material se adhiera a las paredes del vaso).
5. Se retira del calor el vaso y se filtra al vacío.
6. Se pasa nuevamente el residuo al vaso original con ayuda de los 200 ml de hidróxido de sodio caliente, con el cual se efectuará la segunda digestión.
7. Se deja 30 minutos la digestión alcalina.
8. Se saca el vaso, se filtra al vacío y se enjuaga con cuatro porciones de agua destilada caliente.
9. Se pasa el papel filtro a un crisol (previamente a peso constante 30 minutos a 600°C) a la estufa a 130°C, dos horas.

10. Se enfría y se pesa (anotando el dato).

11. Se pasa al crisol con el papel y la muestra a la mufla durante 30 minutos a 600°C.

12. Se saca a un desecador y una vez frío se pesa (se anota el dato).

Reactivos:

- Ácido sulfúrico
- Hidróxido de sodio

Cálculos:

$\%$ de fibra cruda = $(\text{peso después de la estufa} - \text{peso después de la mufla}) - (\text{peso del blanco}) (100) / \text{peso de la muestra}$

2.4. Determinación de almidón por el método colorimétrico

Técnica:

- a) Preparación de la curva de calibración. Se disuelve 0.1 g de almidón en 10 ml de solución de ácido perclórico, se mezcla para disolverlo y se deja reposar 10 minutos. Se diluyen a 100 ml con agua destilada. Se toman alícuotas de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 ml de esta solución y se transfiere a matraces aforados de 100 ml, que contienen 0.5 ml de solución de ácido perclórico, aforándolos con agua destilada. Estas soluciones tendrán: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 $\mu\text{g/ml}$ de almidón respectivamente. Se toman 5 ml de cada una de estas soluciones, se agregan 4.5 ml de agua

destilada y 0.5 ml de solución yodo - yoduro de potasio y se mezcla. La concentración final de almidón de estas soluciones será: 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 ug de almidón en 10 ml. Después de 20 minutos se lee absorbencia a 600 nanómetros en el espectrofotómetro.

Se grafica la curva de calibración y se calculan los ug de almidón correspondientes a una unidad de absorbencia (F).

- b) Determinación de almidón en las muestras. Se pesan 50 mg de muestra seca y molida, se transfieren a tubos pequeños de centrífuga, se agregan 12.5 ml de solución decolorante y se colocan 10 minutos en un baño de agua a 72°C. Se enfrían a temperatura ambiente y se centrifugan 10 minutos a 2000 rpm. Se desecha el sobrenadante y al residuo se le agregan 5 ml de solución de ácido perclórico, se dejan 10 minutos en reposo, se agregan 5 ml de agua destilada y se mezclan. Se centrifuga a 15000 rpm durante 20 minutos. Se toma una alícuota adecuada del sobrenadante, haciendo una dilución si es necesario (2 ml del sobrenadante y se diluyen a 100 ml con agua destilada) y se desarrolla color como en la curva de calibración, se lee absorbencia a 600 nanómetros. El contenido de almidón se expresa como g/100 g de muestra y se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ de almidón} = \text{Abs} \times \text{F.D.} \times \text{F/m} \times 10$$

F.D. = Factor de dilución

F = Factor

m = Muestra

Preparación de reactivos y soluciones:

Solución decolorante: Se disuelven 80 g de cloruro de sodio en 250 ml de agua destilada, se agregan 750 ml de metanol, se agita bien y se deja reposar hasta que esté transparente. Se filtra para quitar el exceso de cloruro de sodio.

Reactivo de ácido perclórico: Se agregan 300 ml de ácido perclórico de 70 a 72% a 224 ml de agua destilada.

Solución de yodo-yoduro de potasio: Se disuelven 20 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua destilada, se añaden 2 g de yodo y se diluye a un litro con agua destilada.

2.5. Determinación del contenido de proteína

Principio: Con el ácido sulfúrico se destruye la materia orgánica (C, H, O,) el nitrógeno que es la molécula de la proteína se combina con el ácido sulfúrico, formándose sulfato de amonio, al agregar el hidróxido de sodio éste se combina con el sulfato formándose sulfato de sodio y el amonio es liberado, combinándose con el ácido bórico formando borato de amonio, y este borato de amonio es el que se titula.

Material:

- Digestor Kjeldahl

Técnica:

Se pesa un gramo de harina en una balanza de precisión (analítica), se transfiere a un matraz Kjeldahl de 500 ml, se agregan 10 g de catalizador y 22 ml de ácido sulfúrico, todo esto se pone a digerir durante 35 a 40 minutos, se deja enfriar y enseguida se diluye con 250 ml de agua destilada, se agrega de 5 a 6 perlas de vidrio y 4 ó 5 granallas de zinc, vertir cuidadosamente por las paredes 80 ml de hidróxido de sodio al 50%, se recibe el destilado en 50 ml de ácido bórico al 4%, recibir más o menos 250 ml de destilado (cuando se pesa 1 g de muestra) y 150 ml de destilado (si se pesa medio gramo de muestra) y se titula con ácido clorhídrico 0.1 N. Se lleva blanco desde el principio, el cual lleva 5 g de catalizador y 17 ml de ácido sulfúrico, no lleva muestra, todo lo demás es igual.

Preparación de reactivos:

Preparación de la sosa (NaOH) al 50%.

Se pesan 2.250 kg de sosa, se pone en un matraz balón de 6 litros y se le agrega 140 g de tiosulfato de sodio (en cristales o en lentejas), se agrega un litro de agua destilada, se agita fuerte para evitar que se haga piedra la sosa y se agregan los 4 litros restantes de agua destilada agitando perfectamente bien, se deja enfriar.

Preparación del catalizador (cantidad para preparar 1 kg).

Sulfato de potasio (K_2SO_4)	990 g
Oxido de mercurio (HgO)	41 g

Sulfato cúprico (CuSO_4) 8 g

Todo esto se mezcla perfectamente bien.

Preparación del ácido bórico al 4%.

Acido bórico (HBr) 120 g

Indicador 30 ml

Agua destilada 3 l

El ácido bórico y el indicador se mezclan y se añaden los 3 litros de agua.

Preparación del indicador para el ácido bórico: Se disuelven 500 mg de verde de Bromo Cresol en 250 ml de alcohol etílico absoluto y 100 mg de rojo de metilo en 50 ml de alcohol etílico absoluto; se mezclan las dos soluciones y se guardan en frascos color obscuro.

Anexo 3

Análisis histológico

Preparación del formol al 10%

Fosfato de sodio monobásico	4 g
Fosfato de sodio dibásico	6.5 g
Formaldehído en solución	100 ml
Agua destilada	1000 ml

Los dos fosfatos se aforan a 100 ml con formaldehído en solución, una vez disueltos esta solución se afora a 1000 ml con agua destilada.

Procedimiento de la técnica histológica

1. Se lavan en agua corriente por 24 horas.
2. Se deshidratan, utilizando alcoholes en grado creciente.

Alcohol 50 %	2 horas
Alcohol 60%	2 horas
Alcohol 70%	2 horas
Alcohol 96% (2 cambios)	2 horas c/u
Alcohol etílico absoluto (3 cambios)	1 hora c/u
Alcohol etílico absoluto - tolueno	30 minutos
Aclarar con tolueno	15 minutos
Tolueno-parafina (P.F. 50-52°C)	30 minutos
Parafina I (P.F. 50-52°C)	2 horas
Parafina II (P.F. 52-54°C)	2 horas
Parafina III (P.F. 54-56°C)	2 horas
Parafina IV (P.F. 56-58°C)	2 horas
Parafina-inclusión (P.F. 57-60°C)	2 horas

Procedimiento de la técnica de Hematoxilina-Eosina.

1. Se desparafinan en xilol, dos cambios de 5 minutos c/u.
2. Se comienzan a hidratar en alcohol de 96%, 3 cambios de 5 minutos cada uno.
3. En alcohol de 70% 3 cambios de 5 minutos cada uno.
4. Se termina de hidratar en agua destilada, 8 minutos.
5. Se tiñen los núcleos con hematoxilina de Harris, durante 8 minutos.
6. Se lava en agua corriente, durante 5 minutos.
7. Se diferencia unos segundos en alcohol ácido.
8. Se lava en agua corriente, durante 5 minutos.
9. Se vira por unos segundos en agua amoniacal.
10. Se lava en agua corriente, durante 5 minutos.
11. Se tiñe el citoplasma con Eosina alcohólica durante un minuto.
12. Se lava y empieza a deshidratar en alcohol de 96%, tres cambios de 5 minutos cada uno.
13. Se termina de deshidratar en creosota-xilol-creosota.
14. Se aclara en xilol, dos cambios de 5 minutos cada uno.
15. Se monta en recina sintética.

Resultado:

Núcleos - azul morado.

Citoplasma - naranja a rojo.

Preparación de reactivos:

Preparación de Hematoxilina de Harris.

Hematoxilina	1 g
Oxido rojo de mercurio	0.5 g
Sulfato de aluminio y amonio o potasio (alumbre)	20.0 g
Alcohol etílico absoluto	10 ml
Agua destilada	200 ml

Se disuelve la hematoxilina en el alcohol etílico absoluto calentando a baño María, el matraz debe estar tapado. El alumbre se disuelve en un matraz en 100 ml de agua destilada. Las dos soluciones se mezclan y se añade el resto del agua. Esta mezcla se calienta lo más rápidamente posible; cuando empiece a hervir esta solución se retira del fuego y se añade con mucho cuidado el óxido rojo de mercurio. Se vuelve a calentar hasta que tome un color rojo púrpura; se enfría lo más rápidamente posible con agua corriente o con hielo. Una vez fría la hematoxilina se filtra 10 veces. Se agregan de 3 a 5 gotas de ácido acético por cada 10 ml de la solución. La hematoxilina debe filtrarse una vez, siempre que se utilice.

Preparación de la Eosina Alcohólica

Eosina azulosa	1 g
Orange G	1 g
Alcohol al 70%	100 ml

Se disuelve la eosina azulosa en 50 ml de alcohol al 70%, y en los otros 50 ml se disuelve el orange G; se mezclan

estas dos soluciones. Se filtra la mezcla cada vez que se utilice.

Procedimiento de la técnica de Rojo Oleoso

1. Se lavan los cortes en agua destilada.
2. Se deshidratan en alcohol de 60% durante un minuto.
3. Se colocan los cortes en la solución colorante de rojo oleoso por un minuto.
4. Se diferencian en alcohol al 60%, durante 3 minutos.
5. Se lavan en agua destilada, durante 1 minuto.
6. Se tiñen los núcleos con hematoxilina de Harris, durante 1 minuto.
7. Se lava en agua destilada durante 1 minuto.
8. Se vira en agua amoniacal, durante 1 minuto.
9. Se lava en agua de la llave, durante 1 minuto.
10. Se monta con gelatina glicerizada.

Resultados

Los lípidos se tiñen de rojo a naranja con el rojo oleoso.

Los núcleos se tiñen de azul morado con hematoxilina.

Preparación de reactivos:

Preparación del Rojo Oleoso

a) Solución madre de rojo oleoso

Solución saturada de rojo oleoso en isopropanol

b) Solución de trabajo

Solución madre 60 ml

Agua destilada 40 ml

Dejar reposar 5 minutos. Se filtra antes de usar.

Preparación de la Gelatina Glicerizada

Gelatina 7 g

Glicerina 50 g

Agua destilada 42 ml

Acido fénico 1 g

Todo esto se mezcla perfectamente bien.

CUADRO 5. ANALISIS QUIMICO EN LOS ACEITES DE SEMILLA DE COLZA (*Brassica napus* var. ZEPHYR Y *Brassica campestris* var. ECHO) Y EN EL ACEITE DE MAIZ (*Zea maíz*)

Indíces	Maíz	Zephyr	Echo
Densidad relativa	0.918	0.922	0.917
Indice de refracción a 25°C	1.4695	1.470	1.4705
Indice de refracción a 40°C	1.464	1.464	1.465
Indice de acidez	0.0078%	0.65%	1.35%
Indice de yodo	82.76	103.40	105.25
Indice de saponificación	98.45	197.87	176.27

Todos los índices coinciden con las recomendaciones internacionales standard, excepto el índice de yodo y de saponificación en el aceite de maíz, los cuales se realizaron 3 veces y resultaron ser más bajos, posiblemente se deba a que es aceite refinado.

CUADRO 6. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA DE GAS

Acidos grasos	Maíz	Zephyr	Echo
Palmítico	13.60%	3.74%	2.53%
Esteárico	2.82%	1.87%	31.63%
Oléico	38.43%	63.30%	18.12%
Linoléico	45.15%	18.83%	19.02%
Linolénico	0.0	9.95%	0.44%
Erúcico	0.0	1.34%	26.42%

CUADRO 7. ANALISIS QUIMICO DE LA COMPOSICION DE LAS 3 DIETAS, ADMINISTRADAS A DIFERENTES GRUPOS DE RATAS DURANTE 10 SEMANAS DE EXPERIMENTACION

Componente químico	C	B	A
	Maíz	Zephyr	Echo
Proteína	10.18%	10.15%	10.60%
Almidón	70.16%	70.32%	69.38%
Fibra cruda	0.78%	0.87%	0.61%
Cenizas	1.80%	1.65%	1.78%
Humedad	9.10%	8.91%	9.43%
Contenido de aceite	7.98%	8.1%	8.2%

VI: BIBLIOGRAFIA

- Abdellatif, A.M.M. y R.O. Vles (1970). Pathological effects of dietary rapeseed oil in rats. *Nutrition and Metabolism*, 12:285-295.
- _____ (1972). Cardiopathogenic effects of dietary rapeseed oil. *Nutrition Reviews*, 30:2-6.
- _____ y R.O. Vles (1973). Short-term and long-term pathological effects of glyceryl trierucate and of increasing levels of dietary rapeseed oil in rats. *Nutrition and Metabolism*, 15:219-231.
- Aguirre, G.R. e I. Alcántara (1979). La Colza. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Jalapa, Ver., Comunicado 34.
- Appelqvist, L.A. (1969). Rapeseed; cultivation, composition, processing and utilization. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, London, New York.
- Beare, J.L., J.A. Campbell; J.C. Youngs y B.M. Craig (1963). Effect of saturated fats in rats fed rapeseed oil. *Canadian Journal Biochemistry*, 41:605-612.
- Bengtsson, L. (1972). Botany of Rapeseed. Edited by L.A. Appelqvist and R. Ohlson. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, London, New York.
- Carroll, K.K. (1966). Metabolism of 14 C-labelled oleic acid, erucic acid and nervonic acid in rats. *Lipids*, 1:171-175.
- Espinoza, R.M. (1981). Metodologías (Química de Trigo). SARH-INIA. México.
- Gallegos, B., C.C. y A. Palafox de la B. (1972). El Cultivo de la Colza en México. INIA.
- González, P.M.R. (1974). El nabo aceitero (*Brassica spp*) una alternativa agroindustrial en el uso de los recursos del agricultor sonorense. Chapingo, Méx.
- Holt, N. (1973). Zero-Zero Rapeseed. Why?. University of Saskatchewan Crop. Science Department. Seminar.
- Horwitz, W. (1975). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (AOAC). Washington.
- Informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (1977). Las Grasas y Aceites en la Nutrición Humana. Colección FAO; Alimentación y Nutrición: págs. 59-70.

- INIA dependiente de la SARH, (1975). Informe de labores de 1973-1974. Departamento de Oleaginosas. Chapingo, Méx.
- Kramer, J.K.G.; S. Mahadevan; J.R. Hunt; F.D. Sauer; A.H. Corner y K.M. Charlton (1973). Growth rate, lipid composition metabolism and myocardial lesions of rats fed rapeseed oils (*Brassica campestris*) var. Arlo, Echo and Span, and (*Brassica napus*) var. Oro. *Journal of Nutrition*, 103:1696-1708.
- _____ y Hulan, H.W. (1977). Changes in cardiac lipids of chicks fed rapeseed oils with different levels of erucic acid. *Canadian Journal of Animal Science*, 57:305-312.
- León, M. (1978). La colza oleaginosa. Ministerio de Agricultura, Madrid, España.
- Lodhi, G.N.; R.K. Singh y S.C. Sharma (1979). Production and distribution of dry matter in plant components and its effect on seed yield in brownseeded Indian colza. *Indian Journal Agriculture Science*. 49(6):463-469.
- Loof, B. y L.A. Appelqvist (1972). Plant breeding for improved yield quality. Cap. and in rapeseed cultivation, composition, processing and utilization. Edited by: L.A. Appelqvist y R. Ohlson. Elsevier publishing co. Amsterdam, London, New York.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of Pathology. Third edition. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Lynch, H.J.; S.S. Raphael; L.D. Mellor; P.D. Spare y M.J.H. Inwood (1972). Métodos de laboratorio. 2a. edición. Ed. Interamericana, México; págs. 1099-1152.
- Martínez, L.R. y A. Janovitz (1978). Análisis bromatológico de yuca.
- Martoja, R. y M. Martoja-Pierson (1970). Técnicas de histología animal. Ed. Toray-Masson, S.A. Barcelona; pag. 192-193.
- Mehlenbacher, V.C. (1977). Análisis de grasas y aceites. Enciclopedia Química Industrial, Tomo 6. Editorial URMO.
- Norseth, J. (1979). The effect of feeding rats with partially hydrogenated marine oil or rapeseed oil on the chain shortening of erucic acid in perfused heart. *Biochimica et Biophysica Acta*, 575:1-9.
- Palafox de la Barrera, A. (1972). La colza seminario CIAMEC/INIA, Oaxtepec, Morelos.
- _____ (1973). El cultivo de la colza en los Valles Altos, Circular CIAMEC No. 38.
- _____ (1982). Comunicación personal.

- Rincón Carreón, J.I. (1981). Guía para cultivar colza de temporal en los Valles Altos. SARH. INIA, Chapingo, Méx.
- Robles Sañchez, R. (1980). Producción de oleaginosas textiles. Ed. Limusa, México.
- Roquelin, G. y R. Cluzan (1968). L'huile de colza riche en acide érúciqúe et l'huile de colza sans acide érúciqúe: valeur nutritionnelle et effets physiologiques chez le rat. I. Effets sur la croissance, l'efficacité alimentaire et l'état de différents organes. Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique, 8, 395-406.
- _____; G. Nitou; P. Juaneda; P.O Astorg; R. Cluzan; R. Levillain y N. Vodovar (1978). Effects des huiles de colza (A Haute ou Basse teneur en acide erucique) Sur les phospholipides et L' Anatomie du Myocarde du rat wistar. La Nouvelle Huile de Colza. CNERNA. Paris, 14 Decémbre.
- Sevilla y Aramaki (1980). Análisis de calidad en aceite de diferentes variedades de colza (*Brassica spp*). Informe anual del Laboratorio Central de Oleaginosas, INIA, páq. 114-128.
- Stefansson, B.R.; F.W. Hougen y R.K. Downey (1961). Note of the isolation of rape plants with seed oil free from erucic acid. Reprinted from Canadian Journal of Plant Science, 41:218-219.
- ____ y Z.P. Kondra (1975). Tower summer rape. Canadian Journal of Plant Science, 55(1):343-344.
- Thomasson, H.J. y J. Boldingh (1954). The biological value of oils and fats; the growth-retarding substance in rapeseed oil. Journal of Nutrition, 56: 469-475.
- Yamashiro, S. y M.T. Clandinin (1980). Myocardial ultrastructure of rats fed high and low erucic acid rapeseed oils. Experimental and Molecular Pathology, 33:55-64.
- Zadernowski, R. y F. Sosulski (1978). Composition of total lipids in rapeseed. Journal of the American oil Chemists' Society, 55:870-872.