

00567
2ej. 1
UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
SANTO DOMINGO DE LOS BAÑOS

EFFECTO DE LA DIETA SOBRE EL CONTENIDO DE ACIDOS GRASOS
POLINSATURADOS C20:5 Y C22:6 DE LA SERIE w3 EN TRUCHA ARCOIRIS
(Salmo gairdneri)

INFORME DE TRABAJO
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA DE ALIMENTOS (QUIMICO)

PRESENTA:
EDGARDO BEST GUZMAN.

1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN.

La presencia de ácidos grasos ω_3 en la dieta humana aparentemente tiene efectos benéficos en la prevención de problemas cardiovasculares. Con el objeto de evaluar el aumento en el contenido de estos ácidos grasos en trucha arcoiris (*Salmo gairdneri*) se elaboraron 5 dietas, una sin grasa añadida y las otras cuatro con diferentes niveles de grasa de coco y aceite de hígado de bacalao. La composición de ésteres metílicos de los ácidos grasos en cada uno de los tratamientos se determinó por cromatografía de gases. Estas dietas junto con un alimento comercial se emplearon para alimentar trucha arcoiris durante 10 semanas. Se determinó la ganancia promedio en peso cada 15 días; el índice de mortalidad así como la conversión de alimento se calcularon al final del experimento. Se sacrificaron 6 peces de cada tratamiento dividiéndose en dos grupos de 3 peces cada uno; los peces se filetearon utilizando solo la piel y el músculo, que son supuestamente la parte comestible, y se determinó el contenido de grasa y los ésteres metílicos de ácidos grasos de los dos grupos en cada uno de los tratamientos. Se observó que la dieta que produjo la mejor ganancia promedio en peso fué la dieta que contenía 12.1% de grasa de coco y 2.0% de aceite de hígado de bacalao, siendo aún mejor que el alimento comercial. La concentración de $C22:6\omega_3$ en la porción comestible del pez aumentó conforme la dieta contenía más aceite de hígado de bacalao (conteniendo 10.0% de $C20:5\omega_3$ y 9.6% de $C22:6\omega_3$), no así el nivel de $C20:5\omega_3$, lo que indica que la trucha arcoiris alarga e insatura la mayor cantidad de este último ácido graso de la dieta a $C22:6\omega_3$, a diferencia del ser humano en que la reacción catalizada por la Δ^{-4} desaturasa es el paso limitante en la formación del $C22:6\omega_3$. El aumento en el contenido de $C22:6\omega_3$ en la porción comestible del pez, fué función de la cantidad de ácidos grasos ω_3 presentes en la dieta. El consumo de trucha arcoiris manipulada dietéticamente es pues una posibilidad para incrementar los ácidos grasos de la familia ω_3 , especialmente el $C22:6\omega_3$.

ABSTRACT.

The ω_3 fatty acids in the human diet apparently prevent cardiovascular diseases. In order to evaluate the augmentation of these fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), 5 diets were made; one with no fat added, and the others were added with different levels of coconut fat and cod liver oil. Methyl esters of fatty acids were analysed in each treatment by gas chromatography. These diets and a commercial formula were employed to feed rainbow trout during 10 weeks. The mean weight gain was determined every 15 days; the mortality and the feed conversion were calculated at the end of the experiment. Six fishes of each treatment were sacrificed and splitted in 2 groups of 3 fishes each; the fishes were filleted using only the flesh and the skin (they are supposed to be the edible portion of the fish), the fat content and the methyl esters of fatty acids of both groups of each treatment were determined. The best diet in mean weight gain was the once with 12.1% of coconut fat and 2.0% of cod liver oil added, this diet was also better than commercial formula. The $C_{22:6\omega_3}$ content in the edible portion of the fish was higher according with the augmentation of cod liver oil in the diet (the cod liver oil used in this experiment had 10.0% of $C_{20:5\omega_3}$ and 9.6% of $C_{22:6\omega_3}$, but this effect did not happen with the $C_{20:5\omega_3}$. This means that rainbow trout elongate and desaturate the $C_{20:5\omega_3}$ of the diet to $C_{22:6\omega_3}$, but in humans this reaction catalysed by the $\Delta-4$ desaturase is slow. That is why to eat rainbow trout fed with artificial diets could be an important source of ω_3 fatty acids, specially $C_{22:6\omega_3}$.

CONTENIDO

		Pág.	
CAPITULO	I	Introducción	1
		Acidos Grasos Polinsaturados	2
		Eicosanoides	5
		Efecto de los Acidos Grasos w3 en la Dieta	11
		Lípidos tanto en Tejido como en Dieta de - Trucha Arcoiris	16
		Acidos Grasos Esenciales en Trucha Arcoiris	18
		Objetivos	20
CAPITULO	II	Materiales y Métodos	21
		Elaboración de las Dietas y Análisis Broma- tológico	24
		Análisis de Metales por Absorción Atómica	24
		Desengrasado de la Harina de Pescado	25
		Determinación de los Esteres Metílicos de Acidos Grasos	26
		Elaboración de Dietas	27
		Selección y Alimentación de los Peces con las Dietas Experimentales	30
		Análisis del Contenido de Grasa y de los - Esteres Metílicos de Acidos Grasos de los Peces tratados con las diferentes Dietas	31
		Determinación del Índice de TBA en las -- Dietas	31
CAPITULO	III	Resultados	32
CAPITULO	IV	Discusión	43
		Cantidad de Nutrientes en las Dietas	44

		Selección de Peces	45
		Contenido de Grasa en la Porción Comestible	45
		Ganancia Promedio en Peso de Truchas	46
		Acumulación de Acidos Grasos w3 en la Porción Comestible	48
CAPITULO	V	Conclusiones	48
CAPITULO	VI	Bibliografía	50

CAPITULO I. INTRODUCCION.

Las enfermedades cardiovasculares, incluyendo la aterosclerosis y trombosis, son la causa principal de muerte en los países occidentales industrializados (Herold y Kinsella, 1986). Estas enfermedades cardiovasculares también están observándose en ciertos sectores de la población de México, principalmente entre aquellos en los que se consumen gran cantidad de alimentos de origen animal como carne, huevo, leche, mantequilla, queso, etc., y que además un buen porcentaje de estos individuos son sedentarios, por consecuencia obesos y con un alto índice de tabaquismo (Cueto et al., 1987).

En años recientes se ha acumulado evidencia de que el desarrollo de estas enfermedades puede reducirse por la ingesta de ácidos grasos polinsaturados $w3$, abundantes en productos marinos y dulceacuícolas. A continuación se resume la información encontrada en la literatura sobre los posibles efectos producidos por la ingesta de grasas que contienen estos ácidos.

Familias $w3$ y $w6$ de Ácidos Grasos Polinsaturados.

Ciertos ácidos grasos debido a su conversión a eicosanoides en diferentes organismos, producen efectos importantes sobre varias funciones fisiológicas. Las principales familias de ácidos grasos polinsaturados son la $w6$ y la $w3$ (Kinsella, 1986).

El ácido linoleico ($C18:2w6$) es la fuente principal de los ácidos grasos $w6$ en la dieta humana y se encuentra en abundancia en los aceites de origen vegetal procedentes de plantas terrestres. De este ácido se deriva el ácido araquidónico ($C20:4w6$), el cual es el precursor más importante de los eicosanoides (Kinsella, 1986). Los ácidos grasos $w6$ son esenciales para humanos (Montgomery et al., 1983).

Los ácidos grasos $w3$ se encuentran en menores cantidades en la mayoría de los alimentos que los que corresponden a la familia $w6$ sin embargo, donde son más abundantes son en los aceites de linaza, colza y soya que contienen ácido linolénico ($C18:3w3$), y en el pescado que contiene los ácidos eicosapentaenoico ($C20:5w3$) y el

docosahexanóico (C22:6w3). Los niveles de estos ácidos son bajos en los lípidos de plaquetas y plasma excepto en sujetos que consumen pescado (Dyerberg et al., 1981).

El C18:3w3 puede ser convertido en los ácidos C20:5w3 y C22:6w3 por la mayoría de los mamíferos incluyendo al hombre, pero esta capacidad es limitada. Sanders y Naismith (1979) observaron que los lípidos de eritrocitos de niños de 14 semanas de edad alimentados con una fórmula de leche que contenía 0.7% de C18:3w3 y 0.02% de C22:6w3 tuvieron un aumento en los niveles de C20:5w3 y C22:5w3, pero bajos niveles de C22:6w3; en cambio los niños alimentados con leche materna (0.8% de C18:3w3 y 0.59% de C22:6w3) tuvieron poca acumulación de pentaenos y altos niveles de C22:6w3 en lípidos de eritrocitos. Estos mismos autores propusieron la hipótesis de que la desaturación en el carbono correspondiente al $\Delta-4$ (el carbono 4 a partir del grupo carboxilo) es lenta en el hombre (ver Fig.1). Sprecher demostró que la velocidad de la $\Delta-4$ -desaturasa es también lenta en la rata (Sprecher, 1977 citado por Sanders y Naismith, 1979).

En otro estudio realizado por Sanders y Younger (1981), se midió la concentración de C20:5w3 y C22:6w3 en la fosfatidilcolina de plasma y plaquetas de sangre humana, extraída de sujetos vegetarianos y omnívoros sanos entre 25 y 47 años de edad, a los cuales se les suministró 5 ml de aceite de linaza (53.93% de C18:w3) cuatro veces al día durante dos semanas. A siete semanas de haber cesado la ingesta de aceite de linaza, tiempo suficiente para que desaparecieran los efectos de este aceite en los lípidos de plasma y plaquetas, se suministró 5 ml de aceite de pescado (17.43% de C20:5w3 y 16.84% de C22:6w3) cuatro veces al día durante dos semanas a sujetos omnívoros. Las muestras de sangre se tomaron antes y después de los tratamientos. Los resultados se muestran en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Porcentaje de C20:5w3 y C22:6w3 en fosfatidilcolina de plasma y plaquetas de sujetos vegetarianos y omnívoros - antes y después de haber tomado un suplemento de aceite

Grupo	Aceite	C20:5w3		C22:6w3	
		Antes	Después	Antes	Después
<u>Plasma</u>					
Omnívoros	Linaza	1.3 \pm 0.37	2.7 \pm 0.50*	4.3 \pm 0.33	3.7 \pm 1.03
Vegetarianos	Linaza	0.3 \pm 0.06	1.0 \pm 0.24*	1.3 \pm 0.30	1.3 \pm 0.46
Omnívoros	Pescado	1.5 \pm 0.27	6.7 \pm 0.96*	3.0 \pm 0.45	4.5 \pm 0.34*
<u>Plaquetas</u>					
Omnívoros	Linaza	0.6 \pm 0.10	1.2 \pm 0.18*	3.0 \pm 0.33	2.9 \pm 0.09
Vegetarianos	Linaza	0.3 \pm 0.04	0.3 \pm 0.04	0.9 \pm 0.17	1.2 \pm 0.26
Omnívoros	Pescado	1.2 \pm 0.17	4.1 \pm 0.10*	2.7 \pm 0.26	3.9 \pm 0.27*

* Estadísticamente diferentes. P<0.05 antes y después del tratamiento.

Se puede observar que los niveles de C20:5w3 y C22:6w3 fueron mayores en los sujetos omnívoros antes de los tratamientos debido a su dieta. Los sujetos vegetarianos consumen alimentos ricos en el ácido C18:2w6 principalmente, presentando bajos niveles de ácidos grasos polinsaturados w3.

Se puede apreciar también de estos resultados que el hombre es capaz de sintetizar el C20:5w3 a partir del C18:3w3, pero la mejor manera de incrementar el contenido de este ácido en lípidos de tejidos es tomándolo de la dieta. El suplemento de aceite de linaza no incrementó la proporción de C22:6w3 en estas fracciones lipídicas ni en vegetarianos ni en omnívoros.

Estos resultados concuerdan con la hipótesis de que la velocidad de la Δ^4 -desaturasa es lenta en el hombre, por lo que la principal fuente de C22:6 ω 3 de los fosfolípidos en las membranas es el consumo de alimentos de origen marino y dulceacuícolas (Sanders y Younger, 1981).

El C22:6 ω 3 se encuentra en altas concentraciones en los segmentos exteriores de bastoncillos oculares, en vesículas seminales y en membranas oculares de humanos, por lo que se ha postulado la hipótesis de que juega un papel importante en la transmisión neural (Sanders et al., 1977).

Las familias de ácidos grasos no son interconvertibles, existiendo competencia e inhibición entre ambas (Sanders et al., 1977).

La Fig. 1 muestra la vía de elongación y desaturación de las dos principales familias de ácidos grasos polinsaturados que ocurren en la naturaleza (Montgomery et al., 1983).

Como se mencionó anteriormente, el hombre tiene una capacidad limitada para sintetizar el C22:6 ω 3 a partir del C18:3 ω 3, pero peces tales como la trucha arcoiris, modelo experimental utilizado en este estudio, alargan e insaturan el C18:3 ω 3 para producir mayor cantidad de C20:5 ω 3 y C22:6 ω 3 (Castell et al., 1972).

Eicosanoides.

Son metabolitos producidos a partir del C20:4 ω 6 principalmente, aunque también son producidos en menor medida, a partir del C20:5 ω 3, en ambos casos por diversos sistemas enzimáticos. Los eicosanoides incluyen las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas. Estos metabolitos se pueden medir por sus productos de excreción en la orina y en los leucocitos sanguíneos (Specter et al., 1983; Prescott, 1984).

La Fig. 2 muestra la síntesis de prostanoides a partir de los ácidos C20:4 ω 6 y C20:5 ω 3 (Kinsella, 1986; Weber et al., 1986).

Los prostanoides que incluyen la prostaglandina E₂ (PGE₂), el tromboxano A₂ (TXA₂) y la prostaciclina I₂ (PGI₂), se producen a par

Figura. 1 Vía de elongación y desaturación de las dos principales familias de ácidos grasos polinsaturados.

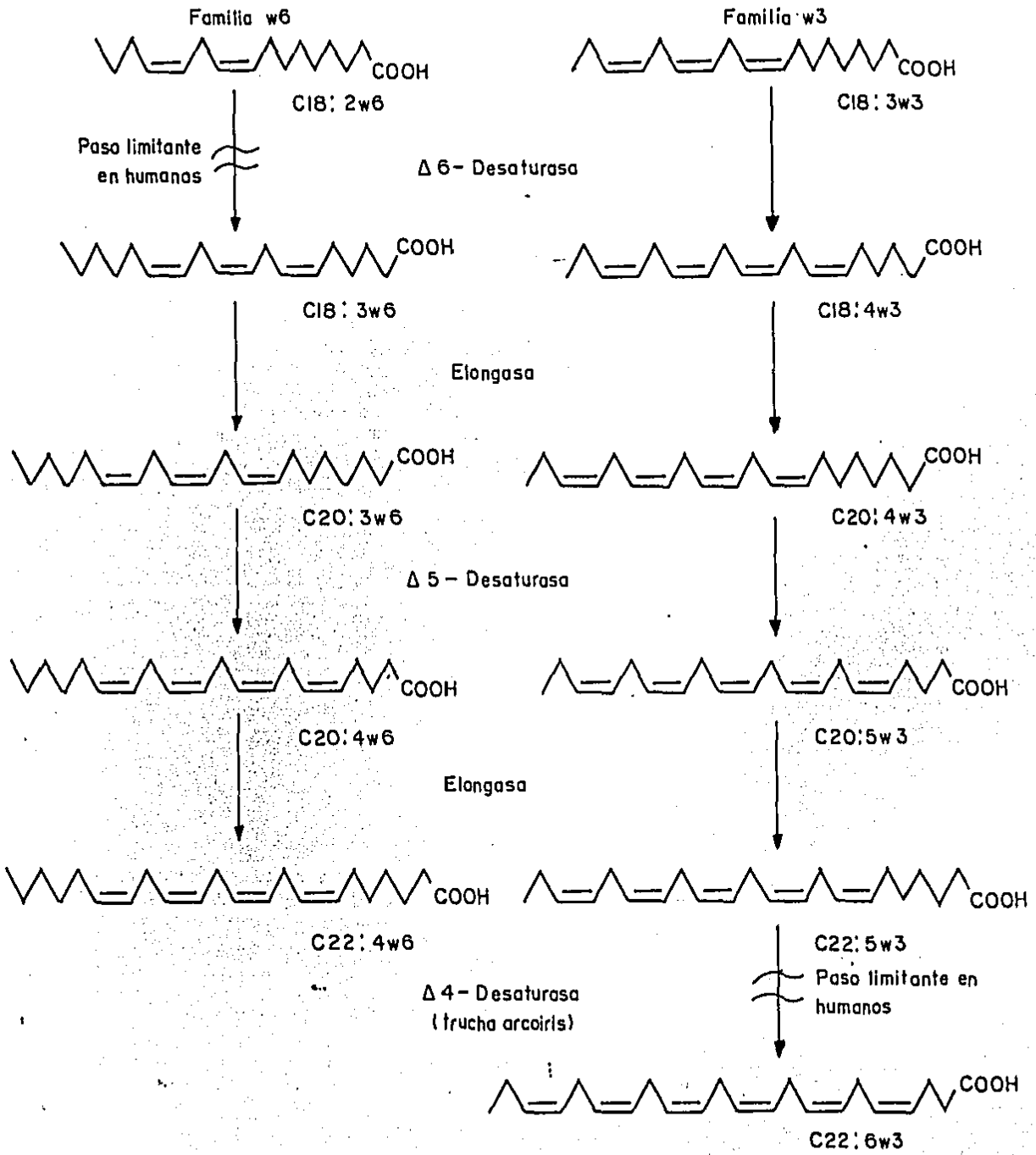
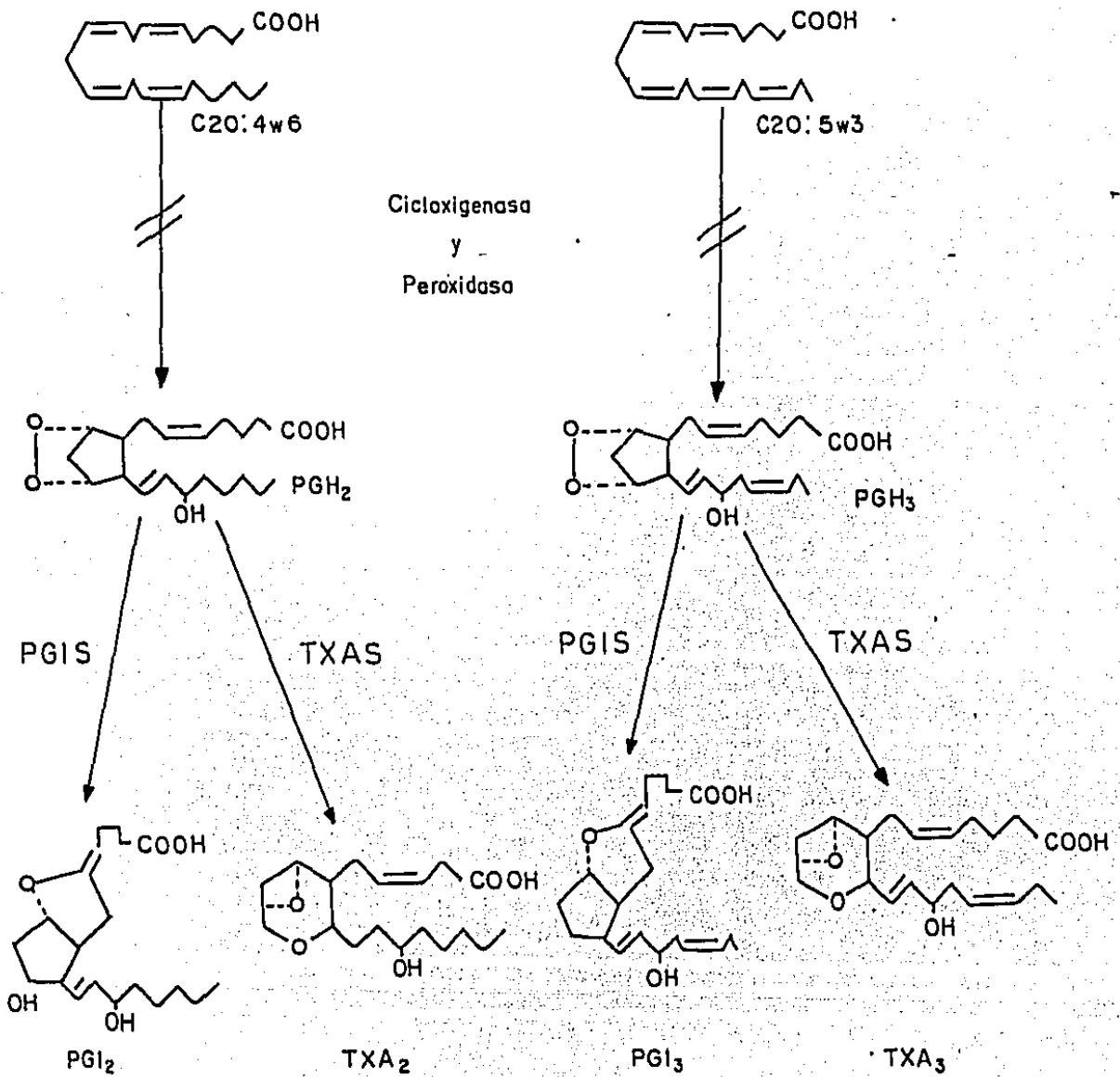


Figura 2. Biosíntesis de prostanoídes a partir de C20:4w6 y C20:5w3 involucrados en hemostásis y trombósis.



PGH=hidroxiendoperoxido; PG= Prostaciclina; TX= Tromboxano

PGIS= PGI Sintetasa

TXAS= TXA Sintetasa

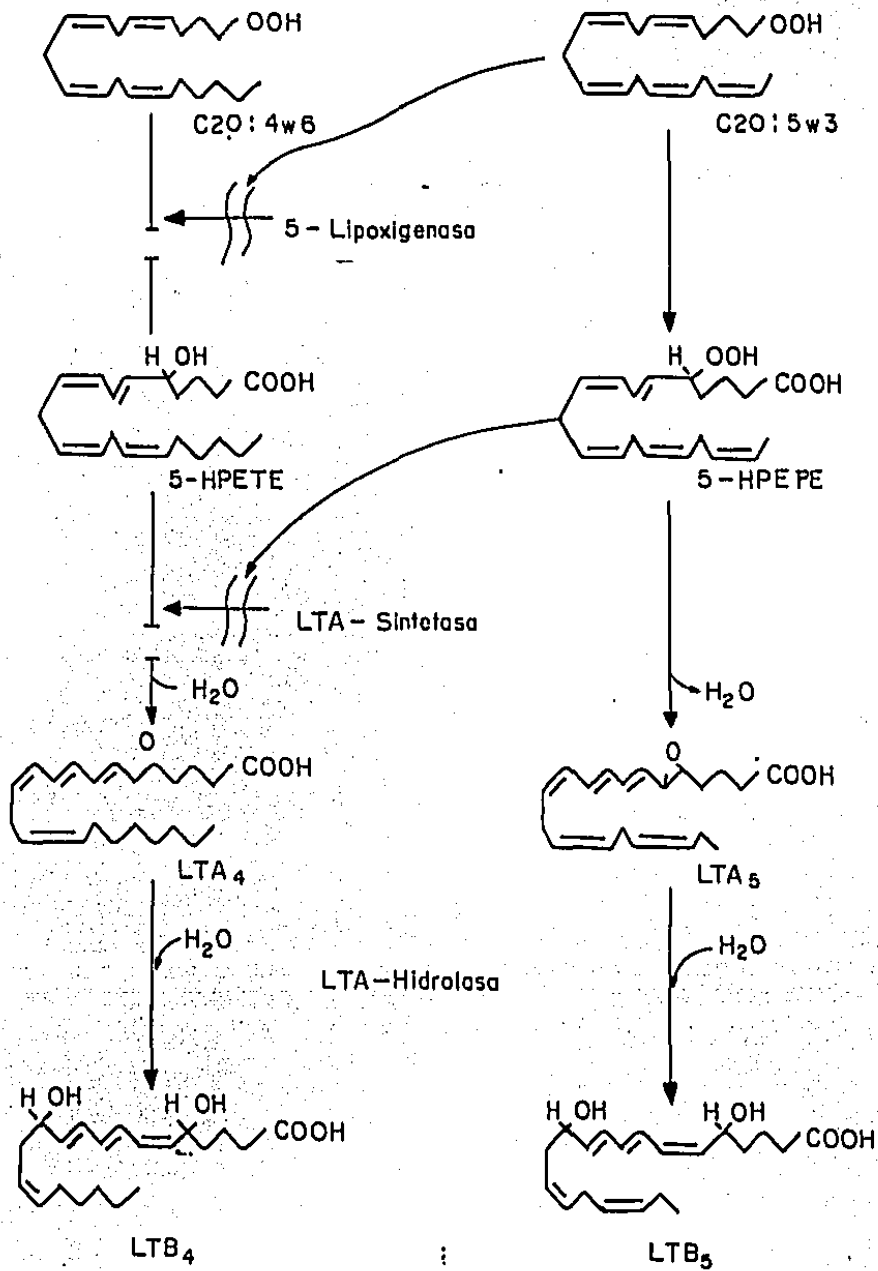
tir de intermediarios endoperóxidos generados del C20:4w6 por la ciclooxigenasa, la cual está presente en la mayoría de los tejidos animales en el retículo endoplásmico y membrana nuclear (Montgomery et al., 1983). La cantidad sintetizada varía con el tejido y es afectada por la disponibilidad del C20:4w6 no esterificado proveniente de los fosfolípidos de los tejidos (Hornstra, 1982 citado por Kinsella, --- 1986).

Los prostanoides TXA₂ y PGI₂ están íntimamente relacionados con la hemodinámica e integridad de los vasos sanguíneos. El TXA₂ es sintetizado en las plaquetas siendo un fuerte agente proagregatorio de éstas. Si su síntesis es excesiva causa vasoconstricción, las plaquetas tienden a agregarse pudiendo bloquear las arterias y causar trombosis cerebral o coronaria. La PGI₂ es sintetizada por las células endoteliales de las paredes de los vasos sanguíneos, siendo un potente agente antiagregatorio de éstas, causando vasodilatación y oponiéndose continuamente a la acción del TXA₂. Este mecanismo homeostático mantiene la integridad y función vascular (Hornstra, 1982 citado por Kinsella, 1986).

Los leucotrienos son modulares bioactivos involucrados en funciones pulmonares (asma), alergias, quimiotaxis, quimioquinesis, respuestas inflamatorias e inmunes. Recientes estudios presentan evidencia de que el leucotrieno C₄ (LTC₄) está involucrado en la secreción de la hormona luteinizante (Samuelsson et al., 1987). El C20:4w6 es convertido vía 5-lipoxigenasa, la cual se encuentra en leucocitos, en el ácido hidroxieicosatetraenoico (5-HPETE), el cual puede ser convertido en el leucotrieno A₄ (LTA₄) y después ser modificado para formar otros leucotrienos (Samuelsson et al., 1987; Hammarstrom, 1983 citado por Kinsella, 1986).

Estos leucotrienos formados a partir del C20:4w6 pueden tener un papel importante en la aterogénesis y trombosis, produciendo efectos quimiotácticos que atraen macrófagos y localizan la producción de TXA₂, esto causa la agregación de plaquetas y su adhesión a la pared del vaso sanguíneo, reduciendo su diámetro (Ross, 1984 citado por Kinsella, 1986).

Figura 3 Síntesis de leucotrienos a partir de C20 : 4w y C20 : 5w3

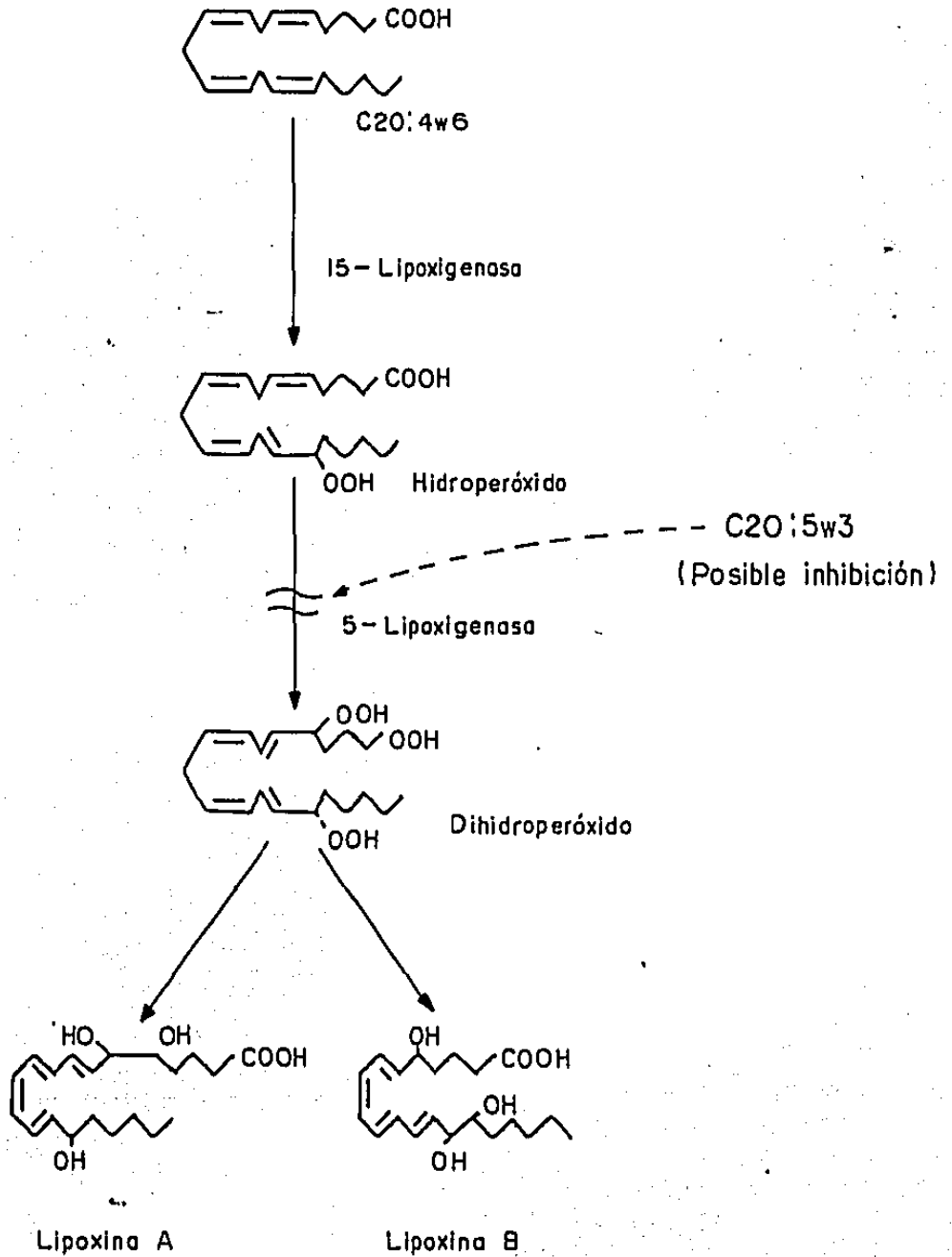


5- HPEPE = ácido hidroperoxieicosapentaenoico

5- HPETE = ácido hidroxieicosatetraenoico

LT = Leucotrieno

Figura 4. Síntesis de lipoxina A y B a partir de C20:4w6



La Fig. 3 muestra la producción de leucotrienos a partir del C20:4w6 y C20:5w3 (Lee et al., 1984). Más adelante se describe con más detalle esta figura.

Las lipoxinas A y B (LXA y LXB) son compuestos estereoespecíficos que inhiben la toxicidad natural de las células por señales involucradas en la orientación del aparato de Golgi, un evento -- que parece ser importante en la citotoxicidad. La LXA causa también quimiotaxis y posee actividad espasmogénica. Las lipoxinas -- son formadas por la acción de la 15-lipoxigenasa y la 5-lipoxigenasa sobre el C20:4w6; ambas enzimas están presentes en leucocitos, (Samuelsson et al., 1987).

La Fig. 4 muestra la síntesis de lipoxinas a partir de C20:4w6 (Samuelsson et al., 1987).

Ni el ácido eicosatrienoico (C20:3w9) derivado del ácido --- oleico (C18:1w9), ni el C22:6w3 son precursores de eicosanoides -- (Montgomery et al., 1983). Sin embargo, el C20:3w6 es aparentemente precursor de eicosanoides (Kinsella, 1981).

La producción de eicosanoides puede manipularse por la dieta -- y por agentes que reduzcan la conversión de C18:2w6 a C20:4w6 ----- (Hornstra, 1982 citado por Kinsella, 1986).

Efectos de los Acidos Grasos w3 en la Dieta.

La Tabla 1.2 muestra los efectos benéficos de la ingesta de pescado y aceite de pescado ricos en ácidos grasos polinsaturados w3 tanto en humanos como en animales.

Los efectos que se describen en la Tabla 1.2 se discuten a -- continuación:

1.- Las enfermedades cardiovasculares son raras entre los esquima-- les que viven en Groenlandia y entre los pescadores japoneses de -- la isla de Okinawa (Dyerberg y Bang, 1979; Kagawa et al., 1982 cita-- do por Kinsella, 1986). Esto aparentemente es debido a su dieta ya

Tabla 1.2 Efectos benéficos de la ingesta de ácidos grasos w3 en humanos y en rata

Efectos	Citas
Baja incidencia de enfermedades cardiovasculares	Dyerberg y Bang (1979); Bang et al., (1971); Kagawa et al., (1982) citado por Kinsella (1986).
Reducción de la presión arterial	Singer et al. (1986).
Tiempo de sangrado más largo	Dyerberg y Bang (1979); Thorngren et al. (1981); Lorenz et al. (1983).
Disminución en los niveles de colesterol, triglicéridos, VLDL y LDL en plasma	Bang et al. (1971); Dyerberg y Bang (1978); Stansby (1967); Siess et al. (1980); Weber et al. (1986).
Tratamiento de hiperlipidémicos	Phillipson et al. (1985).
Producción de TXA_3 e inhibición de la síntesis de TXA_2	Spector et al. (1983); Fischer et al. (1986); Morita et al. (1984).
Producción de PGI_3	Fischer y Weber (1984); Von Schacky et al. (1985a).
Formación de LTA_5	Prescott (1984); Lee et al. (1985).

que consumen un promedio de 400 y 250 g de pescado/día respectivamente (Bang et al., 1971). Kromhout et al. (1985) presentó datos -- los cuales demuestran que la muerte por males cardiacos en hombres holandeses fué 50% menor en aquellos que consumían por lo menos 30 g de pescado/día, comparado a aquellos que no consumían pescado. De los que consumían pescado, dos tercios eran de pescado magro y el resto de pescado graso. De ser válidos estos resultados bastaría consumir un promedio de 3 a 5 g de aceite de pescado/día o comer pescado dos veces por semana.

Kristensen et al. (1987) observó que la ingesta de aceite de salmón disminuyó la incidencia de angina de pecho de pacientes humanos. Culp et al. (1980) obtuvo evidencia de que el aceite de pescado en la dieta puede ser benéfico para reducir el daño miocárdial asociado con trombosis de arteria coronaria.

2.- Singer et al. (1986) observó que una dieta rica en $\text{C20:5}\omega_3$ ingerida por sujetos hipertensos e hiperlipidémicos disminuía la presión arterial en ellos.

3.- El consumo de aceite de pescado o de pescado, aumentó el tiempo de sangrado debido a la reducción en la agregación de plaquetas (Lorenz et al., 1983; Thorugren et al., 1981).

4.- Los esquimales que viven en Groenlandia tuvieron menores niveles de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), y mayores niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma sanguíneo comparado a los daneses blancos y a los esquimales que viven en Dinamarca y que llevan una dieta europea típica. Esto aparentemente se atribuye a su tipo de dieta y no a caracteres hereditarios (Bang et al. 1971; Dyerberg et al., 1978).

La ingesta de pescado o aceites de pescado por sujetos normales provocó una disminución significativa en las concentraciones de colesterol, triglicéridos y VLDL en plasma (Stansby, 1967; Weber, 1987; Nestel, 1984; Siess et al., 1980; Von Schacky et al., 1985a). En ratas la ingesta de aceite de pescado redujo los niveles de colesterol y -

triglicéridos en plasma, con un aumento de colesterol y lípidos - totales en hígado (Kobatake et al., 1984; Kaneda et al., 1963; Mourri et al., 1984).

Nestel et al. (1984) y Glomset (1935) reportaron que los aceites de pescado inhiben marcadamente la biosíntesis de ácidos grasos y de VLDL por el hígado, promoviendo la remoción de VLDL en tejidos periféricos y aumentando la excreción de colesterol.

5.- Phillipson et al. (1985) reportó que en 20 sujetos con hiperlipidemia disminuyeron significativamente los niveles de colesterol y triglicéridos en plasma después de ingerir aceite de pescado durante cuatro semanas.

6.- Los ácidos grasos polinsaturados $\omega 3$ inhiben la síntesis de TXA_2 posiblemente por medio de dos mecanismos:

a) Desplazamiento del C20:4 $\omega 6$ de los fosfolípidos de los tejidos, ya que compiten con los ácidos grasos $\omega 6$ por los mismos sitios de enlace. Con la ingesta de ácidos grasos $\omega 3$ se deprime la concentración del C20:4 $\omega 6$ en los fosfolípidos de tejidos (Von Schacky y Weber, 1985; Von Schacky et al. 1985a y 1985b; Spector et al., 1983; Anding et al., 1986; Siess et al., 1980; Sanders et al., 1981; Socini et al., 1983; Glomset, 1985; Lorenz et al., 1983; Bruckner et al., 1984).

b) Inhibición competitiva de la actividad de la ciclooxigenasa con el C20:4 $\omega 6$, como indirectamente se muestra en la Fig. 2. (Spector et al., 1983; Siess et al., 1980; Fischer et al., 1986).

En plaquetas de rata, el consumo de C20:5 $\omega 3$ disminuyó la síntesis de TXA_2 pero también de la PGI_2 (Croft et al., 1984; Bruckner et al., 1984). Sin embargo el C22:6 $\omega 3$ fue más efectivo en la inhibición de la ciclooxigenasa en plaquetas de rata in vitro, sugiriendo que podría tener un mayor efecto antitrombótico (Bruckner et al. 1984).

Parece haber una relación óptima en la dieta entre los ácidos grasos $\omega 6$ y $\omega 3$ para reducir selectivamente la síntesis de TXA_2 sin afectar en gran medida la producción de PGI_2 . Esto se logra con la ingesta de bajos niveles de aceite de pescado (menos del 5% de la ingesta calórica) (Croft et al., 1984).

El TXA₃ sintetizado a partir del C20:5w3 tiene una actividad agregatoria de plaquetas reducida o nula, comparada a la actividad que tiene el TXA₂ (Dyerberg et al., 1978; Von Schacky et al., 1985a).

7.- La PGI₃ formada a partir del C20:5w3 es un potente agente antiagregatorio de plaquetas cuya actividad es similar a la de la PGI₂. Se observó que las células endoteliales de humanos podían sintetizar la PGI₃ a partir del C20:5w3 (Dyerberg, 1981; Morita et al., 1983). Posteriormente esto se demostró en tejidos humanos in vivo (Fischer y Weber, 1984).

8.- El C20:5w3 presente en los aceites de pescado es un potente inhibidor de la 5-lipoxigenasa (ver Fig.3), por lo que puede ser útil en el tratamiento de enfermedades producidas por la generación excesiva de leucotrienos (Glomset, 1985; Lee et al., 1984; Lee et al., 1985). De tener esto validez, se podría incluso, mediante la ingesta de C20:5w3, inhibir la síntesis de lipoxinas ya que la 5-lipoxigenasa interviene en su síntesis (ver Fig. 4).

Sin embargo, y como se muestra en la Fig. 3, una vez iniciadas las reacciones enzimáticas, el C20:5w3 perdiendo una molécula de agua, es precursor del 5-HPEPE, el cual atenúa la formación del LTA₄ y forma el LTA₅ que muestra una actividad quimiotáctica débil comparada a la del LTA₄ (Prescott, 1984; Strasser et al., 1985; Lee et al., 1984; Lee et al., 1985).

El C22:6w3 es convertido por la acción de la 5-lipoxigenasa, al ácido 7-hidroxicosahexenoico el cual no inhibió la formación del LTA₄ y no fué sustrato para la formación de leucotrienos. Se observó que el C22:6w3 es un potente inhibidor de la ciclooxigenasa pero no afecta la síntesis de leucotrienos (Lee et al., 1984; Prescott, 1984; Fischer et al., 1984).

Otros efectos benéficos observados por la ingesta de ácidos grasos polinsaturados w3 son: baja incidencia de cáncer mamario en mujeres esquimales y japonesas (Carrol, 1984); capacidad visual normal en monos (Neuringer et al., 1984); mejoramiento de enfermedades renales en ratas (Barcelli et al., 1986).

La Tabla 1.3 muestra algunos de los efectos perjudiciales por el consumo de ácidos grasos polinsaturados w3.

Tabla 1.3 Efectos nocivos atribuidos al consumo de ácidos grasos w3

Efectos	Citas
Aumento en la concentración de peróxidos y posible entrelazado de los productos de peroxidación y proteínas.	Kobatake et al.(1984); Mouri et al.(1984); Yagi,(1982).
Disminución en la concentración de α -tocoferol en hígado y suero de ratas	Kobatake et al.(1984); Mouri et al.(1984).
Hipervitaminosis A y D por ingesta excesiva de aceites de hígado de pescado	Herold y Kinsella (1986);Kinsella (1986).
Posible tumorigénesis y cáncer	Kinsella (1986).

Lípidos tanto en Tejido como en Dieta de Trucha Arcoiris.

Los depósitos lipídicos en peces presentan cantidades importantes de ácidos grasos polinsaturados conteniendo 5 y 6 dobles enlaces en la cadena respectivamente, predominando los ácidos grasos $\omega 3$. Estos se encuentran principalmente formando parte de los fosfolípidos (NRC, 1973); Castell et al., 1972a).

Las grasas en la dieta constituyen una importante fuente de energía para la trucha. El contenido de grasa en los alimentos naturales para este pez varía de un 2 o 3% hasta un 20%. El alimento natural consumido por el pez está compuesto principalmente de proteínas y grasas, con bajos contenidos de carbohidratos. En peces de engorda, la proteína se emplea para crecer y mantener el tejido corporal, mientras que la grasa provee la energía. Las dietas comerciales para peces se han caracterizado por tener alto contenido de proteínas y bajo contenido de grasas (NRC, 1973).

Los factores a considerar cuando los lípidos son incluidos en la dieta son su digestibilidad, cantidad en la dieta, uso de antioxidantes, vitaminas, efecto de lípidos tóxicos o alterados y ácidos grasos esenciales (NRC, 1973).

El contenido de grasa puede variar de 3 a 15% en la dieta (de 9 a 40% en base seca). El análisis del contenido de grasa de porciones secas de trucha arcoiris varía de 6 a 14% (de 1 a 4% en base húmeda). Aunque este es un nivel bajo, es deseable que las dietas comerciales contengan de 15 a 25% de grasa en base seca (NRC, 1973; Vázquez y Avilés, 1987).

Niveles adecuados de antioxidantes (150 ppm) deben emplearse en la elaboración de las dietas comerciales para mantener la estabilidad de la grasa durante el almacenamiento. Algunos de los antioxidantes usados son galatos, etoxiquina, BHA y BHT (Vázquez y Avilés, 1987).

Es importante la adición de α -tocoferil acetato como un suplemento dietético para retardar la peroxidación in vivo de la grasa. El nivel de dl- α -tocoferil acetato debería ser de 0.5 a 1.0 IU/g de dieta seca (NRC, 1973).

La grasa comercial es alterada por hidrogenación u oxidación - produciendo ácidos grasos de configuración trans en el primer caso - o hidroperóxidos en el segundo. Estas grasas alteradas pueden producir energía, pero no pueden funcionar como ácidos grasos esenciales e incluso los productos secundarios de la oxidación de los ácidos - grasos pueden ser tóxicos (Tovar y Kaneda, 1977).

Acidos Grasos Esenciales en Trucha Arcoiris.

Se observó que la adición de aceite de pescado en la dieta a niveles hasta un 15%, aumentó la ganancia en peso de trucha arcoiris, mientras que con la adición de aceite de maíz esto no sucedía (Phillips et al., 1952 citado por Castell et al., 1972a).

Dietas sin ácidos grasos polinsaturados causaron crecimiento - deficiente en trucha arcoiris. Truchas alimentadas con aceite de - salmón, el cual es alto en contenido de ácidos grasos ω_3 , mostraron la mejor ganancia en peso. La diferencia promedio en peso entre la dieta con aceite de salmón y la dieta con aceite de cártamo, indica que el aceite vegetal es deficiente en un ingrediente necesario - para el crecimiento óptimo de esta especie (Castell et al., 1972a).

En otro estudio realizado por Higashi et al. (1966) citado por Castell et al. (1972a), el linolenato etílico demostró ser mejor que el linoleato etílico para satisfacer los requerimientos de ácidos - grasos esenciales en trucha arcoiris. Los ésteres etílicos de ácidos grasos altamente insaturados de aceite de calamar fueron aún - superiores. Estos estudios indican que los peces, a diferencia de - los animales homeotermos, requieren en su dieta ácidos grasos ω_3 - (Lee et al., 1967).

El linolenato tuvo mucho más valor como ácido graso esencial - que el linoleato para trucha arcoiris. Se encontró que el linolenato etílico aumentaba consistentemente la conversión de alimento. La dieta que contenía el 1% de $C18:3\omega_3$ tuvo el valor de conversión más alto (Yu y Sinnhuber, 1972 citado por Cowey et al., 1976). El $C18:2\omega_6$ de la dieta no produjo el máximo crecimiento en trucha, y las dietas conteniendo en el modelo experimental este ácido como único ácido -

graso insaturado, resultó en la aparición de síntomas característicos de deficiencia en ácidos grasos esenciales (Castell et al. 1972b).

El requerimiento de ácidos grasos ω_3 para trucha arcoiris es del 1% de la dieta. Este requerimiento se puede llenar con un 5% de aceite de pescado en la dieta (Castell et al., 1972a). Otros estudios realizados posteriormente colocan el requerimiento de ácidos grasos ω_3 para trucha arcoiris en 16.6 g/kg de la dieta (1.56%) o aproximadamente el 8.3% de las calorías de la dieta (Watanabe et al., 1974 citado por Cowey et al., 1976). Tanto el C18:3 ω_3 como el C22:6 ω_3 produjeron máximo crecimiento en trucha arcoiris (Yu y Sinnhuber, 1972 citado por Cowey et al., 1976).

Castell et al., (1972) alimentó trucha arcoiris con dietas conteniendo de 0 a 2% de linolenato etílico y observó que a medida que el contenido de éste ácido se elevaba en la dieta se elevaban también los niveles de C20:5 ω_3 y C22:6 ω_3 en el cuerpo del pez, aunque los niveles de estos dos ácidos no fueron significativamente diferentes con dietas conteniendo 1 y 2 % de C18:3 ω_3 . Chanmugan et al., (1986) encontraron que el contenido de ácidos grasos ω_3 fué menor en camarón, cangrejo y bagre de canal cultivados con dietas basadas en aceite de soya comparados a las mismas especies que viven en estado salvaje consumiendo alimento natural i.e. otros peces y plankton.

La trucha arcoiris alarga e insatura los ácidos grasos polinsaturados de 18 carbonos de la dieta, el C18:2 ω_6 a C20:4 ω_6 y el C18:3 ω_3 a C22:6 ω_3 (Cowey et al., 1976). En un experimento donde lenguado y trucha arcoiris, que previamente habían recibido dietas libres en grasa, se alimentaron con ácidos grasos marcados radioactivamente, después de 6 días se examinó la distribución de la radioactividad en los ácidos grasos de ambas especies y se observó que la trucha arcoiris alimentada con C18:3 ω_3 marcado tuvo el 70% de la radioactividad presente como C22:6 ω_3 . En contraste, el-

lenguado alimentado con los ácidos C18:1w9, C18:2w6 y C18:3w3, -- convirtió solo pequeñas cantidades de ácidos grasos marcados (del 3 al 15%) en ácidos grasos de mayor longitud. Esto implica que el pez marino plano tiene una capacidad más limitada para alargar e- insaturar ácidos grasos C18 de la dieta (Owen et al.,1975).

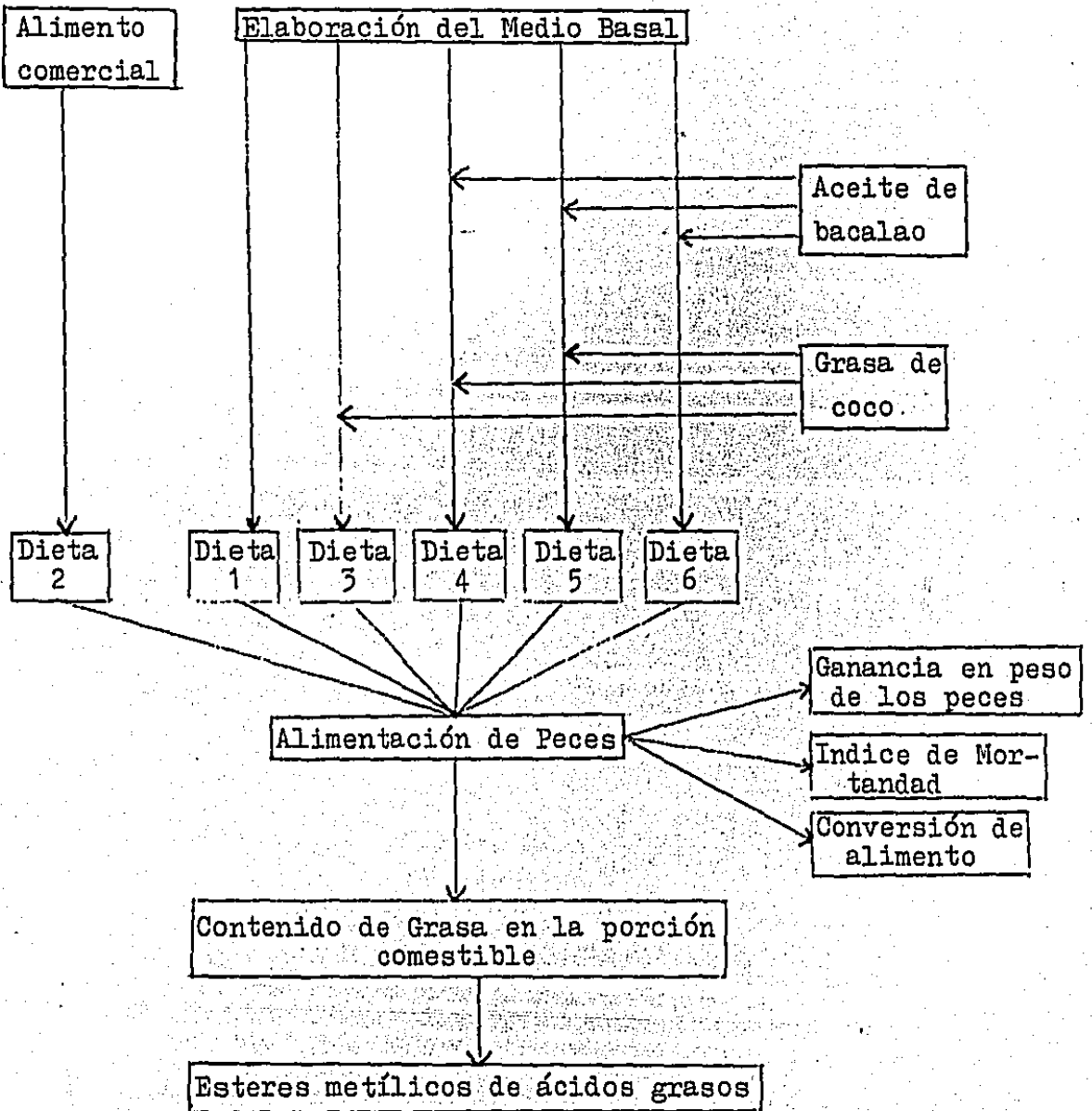
Objetivo.

En este trabajo se pretende evaluar hasta qué punto es posi- ble incrementar el contenido de ácidos grasos w3 en la fracción - comestible de la trucha arcoiris mediante manipulación de la gra- sa en la dieta. Si esto es factible, con la información generada en este trabajo, se podrían preparar los alimentos comerciales -- para esta especie con el fin de lograr dicho objetivo en benefi-- cio de la población.

CAPITULO II. MATERIALES Y METODOS.

Para dar un panorama de las actividades realizadas, se --- elaboró un resumen del diseño experimental (Fig.5).

Figura 5 Diagrama del Diseño Experimental.



Se escogió la trucha arcoiris porque es una especie considerada valiosa por su sabor, cuya explotación va en aumento de 1002 toneladas en 1980 a 1437 toneladas en 1981 (Anuario Estadístico de Pesca, 1980-1981). En nuestro País, en condiciones naturales se le encuentra en Durango, Sinaloa y Chihuahua, pero debido a las siembras y repoblaciones de embalses, su distribución se ha ampliado considerablemente, extendiéndose a los Estados de Chiapas, Hidalgo, Jalisco, México, Baja California, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Veracruz, Tamaulipas, Tlaxcala, Guerrero, Coahuila, Sonora y el Distrito Federal (FONDEPESCA, 1985).

La trucha arcoiris es el salmónido mejor adaptado a la piscicultura intensiva, domesticándose fácilmente y aceptando alimentos suministrados artificialmente. Esto permite que su cultivo vaya en aumento, existiendo productores de peces para poblamiento o repoblamiento de embalses para fines de pesca deportiva y productores de peces para consumo humano directo (FONDEPESCA, 1985).

En el cultivo de la trucha arcoiris se emplean generalmente alimentos peletizados cuya composición varía de acuerdo al estadio del pez. Los requerimientos nutricionales para los peces empleados en este experimento de acuerdo a su edad en general son: proteína 35-40%; grasa 15-25%; carbohidratos digeribles 20%, fibra cruda 40%; vitaminas y minerales (ver tablas más adelante) (NAS, 1973 y Vázquez y Avilés, 1987).

Se decidió elaborar cinco dietas que satisficieran tanto como fuera posible los requerimientos nutricionales de la especie seleccionada a excepción de la grasa. Se elaboró una dieta sin grasa añadida como control, y las otras cuatro dietas se elaboraron con el mismo contenido de energía pero con diferentes niveles de grasa de coco y aceite de hígado de bacalao, de tal manera que el contenido de ácidos grasos polinsaturados w_3 de cada dieta fuera diferente. Se seleccionó la grasa de coco porque no contiene ácidos grasos w_3 , en cambio, el aceite de hígado de bacalao es rico en C20:5 w_3 y C22:6 w_3 .

Se trabajó también con un alimento comercial para peces marca "El Gigante", el cual es empleado en el Centro Piscícola "El Zarco" dependiente de la Secretaría de Pesca en el Estado de México, con el objeto de comparar dicho alimento con las dietas experimentales.

Elaboración de las Dietas y sus Análisis Bromatológicos.

En la elaboración de las dietas se emplearon: harina de pescado elaborada por Productos Pesqueros Mexicanos de Mazatlán, Sin. salvado de trigo para forraje sin marca; grasa de coco sin marca adquirida en Droguería Cosmopolita, S. A. de C. V.; aceite rojo de hígado de bacalao comprado en Drogas Tacuba, S. A. de C.V.; -- fibra no nutritiva tipo celulosa marca teklad proveniente de Madison, Wis.; vitaminas donadas por los Laboratorios Roche de México, S. A. de C. V.; carboximetilcelulosa (CMC), Macrocel 40 PBB, como agente ligante, donada por Celanese Mexicana, S. A. de C. V.; y etoxiquina como antioxidante comprada en Droguería Cosmopolita, S. A. de C. V.

La harina de pescado, el salvado, el alimento comercial y las grasas fueron analizadas antes de la elaboración de dietas. La fibra no nutritiva, las vitaminas, la CMC y la etoxiquina no se sometieron a ningún tipo de análisis.

Los análisis bromatológicos se realizaron sobre la harina de pescado, el salvado y el alimento comercial. Los análisis fueron: -- humedad por termobalanza (Hart y Fisher, 1971); cenizas (A O A C, 1984); proteína cruda (A O A C, 1984); grasa (Bligh y Dyer, 1959); fibra dietética (Van Soest y Wine, 1963) y carbohidratos por diferencia.

Análisis de Metales por Absorción Atómica.

Este análisis se realizó solo sobre una muestra de harina de pescado y tuvo el objetivo de determinar la concentración de ciertos minerales necesarios para el pez. La metodología ha sido descrita previamente por Slavin (1978). Se utilizó un aparato Varian AA 475. El combustible utilizado fué acetileno en todos los metales analizados y se usó como soporte aire con la excepción del --

calcio, en el que se utilizó como soporte óxido nítrico.

Desengrasado de la Harina de Pescado.

La harina de pescado se trató con cloroformo a razón de dos litros de cloroformo por kilogramo de harina, durante una hora con agitación en garrafrones de vidrio. Pasado este tiempo, se filtró y se esparció en papel, dejándose a la intemperie tres días para eliminar el cloroformo residual. Se le determinó el contenido de grasa por el método de Bligh y Dyer (1959).

Como el contenido de grasa aún era elevado, sobre todo para la elaboración de dos dietas (una sin adición de grasa y la otra con adición de grasa de coco solamente), se decidió tomar dos quintas partes del total (aproximadamente 14 kg) y desengrasarlas en una planta de extracción líquido-sólido Soxhlet marca Apex modelo SSE43 la cual se encuentra en la planta piloto del Departamento de Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán".

El desengrasado de la harina de pescado se realizó durante 5 hr, trabajando con una presión de vapor de 0.5 kg/cm^2 y utilizando hexano como solvente.

Después del desengrasado de la harina de pescado, ésta se esparció en papel a la intemperie durante tres días para eliminar el hexano residual. Se determinó su contenido de grasa por el método Bligh y Dyer (1959).

Determinación de los Esteres Metílicos de Ácidos Grasos.

Se determinó el contenido de ésteres metílicos de ácidos grasos de las grasas extraídas de la harina de pescado tratada solo con --- cloroformo, de la harina de pescado tratada con cloroformo y hexano, del salvado y del alimento comercial, así como de la grasa de coco y el aceite de hígado de bacalao, por medio de cromatografía en fase - gaseosa de acuerdo a un método descrito en el manual de Supelco ---- (1978).

Se empleó un cromatógrafo de gases marca Perkin-Elmer modelo -- Sigma 2 B, con graficador marca Kipp & Zonen modelo BD-41.

Las condiciones de trabajo del aparato fueron:

Tiempo inicial: 2 min.

Temperatura del inyector: 230°C.

Temperatura del detector: 230°C.

Velocidad 1: 80-112°C a 16°C/min.

Velocidad 2: 112-144°C a 8°C/min.

Velocidad 3: 144-220°C a 4°C/min.

Tiempo posterior: 10 min.

Atenuación: 32 x 100

Detector de ionización de flama.

Las columnas eran de acero inoxidable de 1/8 pulgadas, 6 pies de longitud, 6% Silar-100, G. Chrom-Q, 100/120 mesh.

El registrador trabajó con una energía de 1 mV con una velocidad de carta de 5 mm/min.

Se utilizó el estándar PUFA's No. 2-Animal Source, Cat.4-7015 de Supelco Inc. (1978) para determinar los tiempos de retención de los ésteres metílicos de ácidos grasos de los diferentes lípidos.

Elaboración de las Dietas.

La formulación de las dietas experimentales se muestra en la Tabla 2.1, así como la canaleta que le correspondió a cada dieta -- por sorteo durante el experimento,

El alimento comercial fué la dieta 2 durante el experimento y se aplicó en la canaleta 3.

Tabla 2.1 Dietas experimentales utilizadas en el bioensayo.

Ingrediente	Dietas				
	1	3	4	5	6
	g/kg de dieta en base seca				
Harina de pescado ^a	432.7	432.7	-----	-----	-----
Harina de pescado ^b	-----	-----	441.0	441.0	441.0
Salvado	389.4	389.4	390.5	390.5	390.5
Carboximetilcelulosa	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
Vitaminas	14.5	14.5	14.5	14.5	14.5
Fibra no nutritiva	150.4	-----	-----	-----	-----
Grasa de coco	-----	150.4	120.6	52.4	-----
Aceite de hígado de bacalao	-----	-----	20.4	88.6	141.0
Canaleta	2	1	4	6	5

a desengrasada con cloroformo y hexano

b desengrasada solo con cloroformo

La dieta 1 tenía menor energía que las demás dietas. Esta dieta -- fué adicionada de fibra no nutritiva en lugar de grasa para tener la misma composición en cuanto a proteínas, cenizas, vitaminas y demás -- nutrientes con las demás dietas; además era importante conocer el ---

efecto de una dieta hipocalórica, ya que el pez no tiene el sistema enzimático para desdoblar esta fibra y producir energía.

Las vitaminas y sus cantidades adicionadas a las dietas experimentales se muestran en la Tabla 2.2, de acuerdo a los requerimientos especificados por la NRC (1973) para trucha arcoiris.

Tabla 2.2 Mezcla de vitaminas adicionadas a las dietas experimentales.

Vitamina	Cantidad
	g/kg de dieta en base seca
Cloruro de colina al 100%	8.8260
Vitamina E: (660 IU/kg)	2.5217
Tiamina	0.0807
Riboflavina	0.1815
Niacinamida	0.6455
Biotina	0.0201
Pantotenato de calcio	0.3613
Piridoxina (HCl)	0.0605
Menadiona	0.0201
Vitamina B ₁₂	0.0668
Acido ascórbico	1.5130
Vitamina D ₂ (500,000 USP/g)	0.0100
Vitamina A (250,000 IU/g)	0.1260
Etoxiquina	0.0429

La Tabla 2.3 muestra la cantidad de algunos metales presentes en la harina de pescado empleada en las dietas experimentales.

Tabla 2.3 Concentración de algunos metales en la harina de pescado

Metal	Concentración	Requerimiento de la trucha arcoiris ¹
		ng/kg de dieta
Sodio	6560	712
Calcio	32600	7884
Potasio	2600	2671
Cinc	380	17
Magnesio	210	600
Fierro	95	40
Cobre	12	8
Cobalto	7	4
Manganeso	31	80

NRC (1973).

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de metales realizados por absorción atómica no existen deficiencias en sodio, calcio, cinc, fierro, cobre y cobalto, pero si se observan posibles deficiencias en potasio, magnesio y manganeso, elementos que pueden estar presentes en el salvado, además de posibles deficiencias en los iones yoduro y fluoruro que no se determinaron.

Debido a estos resultados las dietas no fueron adicionadas de minerales ya que tanto la harina de pescado como el salvado contienen alto contenido de cenizas con los minerales necesarios para trucha arcoiris.

Las dietas se elaboraron de la siguiente manera: Se mezcló la harina de pescado, el salvado y la CMC en un cubo mezclador de --- polvos hecho en el Departamento de Ingeniería de la Facultad de -- Química, durante 20 min. La mezcla se colocó en una batidora marca Ohaus. se le adicionó un litro de agua de la llave a 60-65°C, -- se le añadió la fibra no nutritiva o la grasa (según la dieta) y -- se mezcló por 10 min. Posteriormente se añadieron las vitaminas y se mezcló por 5 min. más.

La masa obtenida se pasó a través de un molino de carne ma--- nual con perforaciones de 5 mm, y el producto obtenido se recogió en papel y se secó a la intemperie durante cuatro días, determinán dose el contenido de humedad de cada dieta al final de este período por medio de una termobalanza. No se detectó crecimiento microbiano.

Las dietas se almacenaron en un cuarto frío a 5°C en bolsas -- de plástico durante todo el experimento, llevando solamente la --- cantidad necesaria semanalmente para la alimentación de los peces en el Centro Piscícola "El Zarco".

Selección y Alimentación de los Peces con las Dietas Experimentales.

Se trabajó en la sala de incubación del Centro Piscícola "El Zarco" dependiente de la Secretaría de Pesca en el Estado de México.

Los peces se seleccionaron de acuerdo a un intervalo de talla entre 15-20 cm. Se tomaron 18 peces para cada tratamiento y se pesaron en bloque (todos juntos). Se colocaron en canaletas de fibra de vidrio de 3.20 x 0.40 x 0.40 m. Cada canaleta tenía su propia llave de agua independiente de las demás, recibiendo un volumen de agua -- de 4 l/min. La temperatura de agua en las canaletas fué de 11°C durante el experimento.

Se alimentó a los peces con el 3% de su peso en base seca diariamente tres veces al día, cantidad mayor a la recomendada en tablas temperatura vs. talla del pez, la cual es de 2.4% (Vázquez y Avilés, 1987). Los peces se pesaron en bloque cada 15 días durante -- 10 semanas, registrándose la mortalidad diariamente. Transcurridas-

las 10 semanas, se calculó el índice de mortalidad y la conversión de alimento aparente de acuerdo a los g en peso ganados -- por el pez/g de alimento suministrado. Este último cálculo se -- realizó de esta manera debido a lo difícil que es hacer un balan ce de masa, porque la cuantificación de material de la dieta que se solubiliza al estar en contacto con el agua no se realizó, y -- además la separación de alimento no consumido por los peces de -- las heces fecales de éstos es un trabajo arduo y difícil que --- tampoco se realizó.

Análisis del Contenido de Grasa y de los Esteres Metílicos de Acidos Grasos de los Peces Tratados con las Diferentes Dietas.

Transcurridas las diez semanas, se sacrificaron 6 peces de cada tratamiento por exposición al aire, se pesaron individual-- mente y se dividieron en dos lotes con tres peces cada uno. Los peces de cada lote fueron fileteados utilizando solo el músculo-- y la piel. Los 6 filetes obtenidos de cada lote se pasaron a --- través de un molino de carne manual.

La pulpa obtenida se empleó para determinar el contenido -- de grasa por el método de Bligh y Dyer (1959). La grasa extraída por este método se usó para determinar los ésteres metílicos de-- ácidos grasos empleando el mismo método mencionado anteriormente.

Determinación del Índice de TBA en las Dietas.

Se determinó el índice de TBA en todas las dietas al inicio-- y al final del experimento, para conocer el grado de oxidación de las grasas que contenían. Este índice se determinó por duplicado-- de acuerdo a los métodos de Tarkadgis et al. (1960) y Williams -- et al. (1983).

CAPITULO III. RESULTADOS.

Los resultados del análisis bromatológico realizado sobre - harina de pescado, salvado y el alimento comercial se muestran - en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Análisis bromatológico de las materias primas empleadas en la elaboración de las dietas.

Componente	Harina de Pescado	Salvado	Alimento Comer- cial
Humedad	11.03 \pm 0.12	11.50 \pm 0.08	8.60 \pm 0.08
Cenizas	20.99 \pm 0.31	5.32 \pm 0.10	12.61 \pm 0.22
Proteína cruda	61.30 \pm 1.07	15.70 \pm 0.17	36.91 \pm 0.87
Grasa	6.68 \pm 0.06	2.95 \pm 0.52	5.58 \pm 0.23
Fibra dietética	-----	12.91 \pm 0.59	10.90 \pm 0.46
Carbohidratos por diferencia	-----	51.62 \pm 1.22	24.40 \pm 1.43

La harina de pescado desengrasada solo con cloroformo tuvo un contenido de grasa de 4.67 \pm 0.26 %. La harina de pescado tratada con cloroformo y hexano tuvo 2.71 \pm 0.16 % de grasa.

El contenido de ácidos grasos polinsaturados expresados en porcentaje de los ésteres metílicos de ácidos grasos de los lípidos extraídos de las harinas de pescado desengrasadas, el salvado, el alimento comercial, la grasa de coco y el aceite de hígado de bacalao, se muestra en la Tabla 3.2. No se determinó el material insaponificable de estos lípidos, pero de acuerdo a la literatura el contenido de material insaponificable en el aceite de hígado de bacalao va de 0 a 4.7 %, y el de la grasa de coco va de 0 a 0.5 % (son las principales fuentes de lípidos añadidas a las dietas). Siendo éstas cantidades muy bajas se optó por considerar que todo el porcentaje de grasa era esterificable para fines de cálculo (Hamilton, 1987).

Tabla 3.2 Contenido de ácidos grasos de los lípidos extraídos de las materias primas y de las grasas adicionadas a las dietas

Acido Graso	HP ^a	HP ^b	Salvado	Grasa de coco	Aceite de bacalao	AC ^c
%						
C6:0	-----	-----	-----	1.9	-----	-----
C8:0	-----	-----	-----	11.2	-----	-----
C10:0	-----	-----	-----	8.7	-----	-----
C12:0	-----	-----	-----	31.7	-----	-----
C14:0	-----	-----	-----	17.4	5.3	7.8
C14:1	-----	-----	-----	-----	-----	1.3
C16:0	1.1	8.8	-----	14.9	12.0	20.6
C16:1	-----	-----	-----	-----	10.8	8.0
C18:0	4.5	6.5	-----	4.1	2.3	17.4
C18:1w9	4.1	43.7	26.1	6.7	27.1	20.6
C18:2w6	0.5	18.5	67.8	3.2	2.2	4.2
C18:3w3	0.5	9.4	5.9	-----	17.6	1.3
C20:4w6	1.8	2.9	-----	-----	2.9	3.2
C20:5w3	0.3	7.0	-----	-----	9.9	0.4
C22:6w3	2.8	3.1	-----	-----	9.6	2.1

a Harina de pescado con 2.71% de grasa.

b Harina de pescado con 4.67% de grasa.

c Alimento comercial.

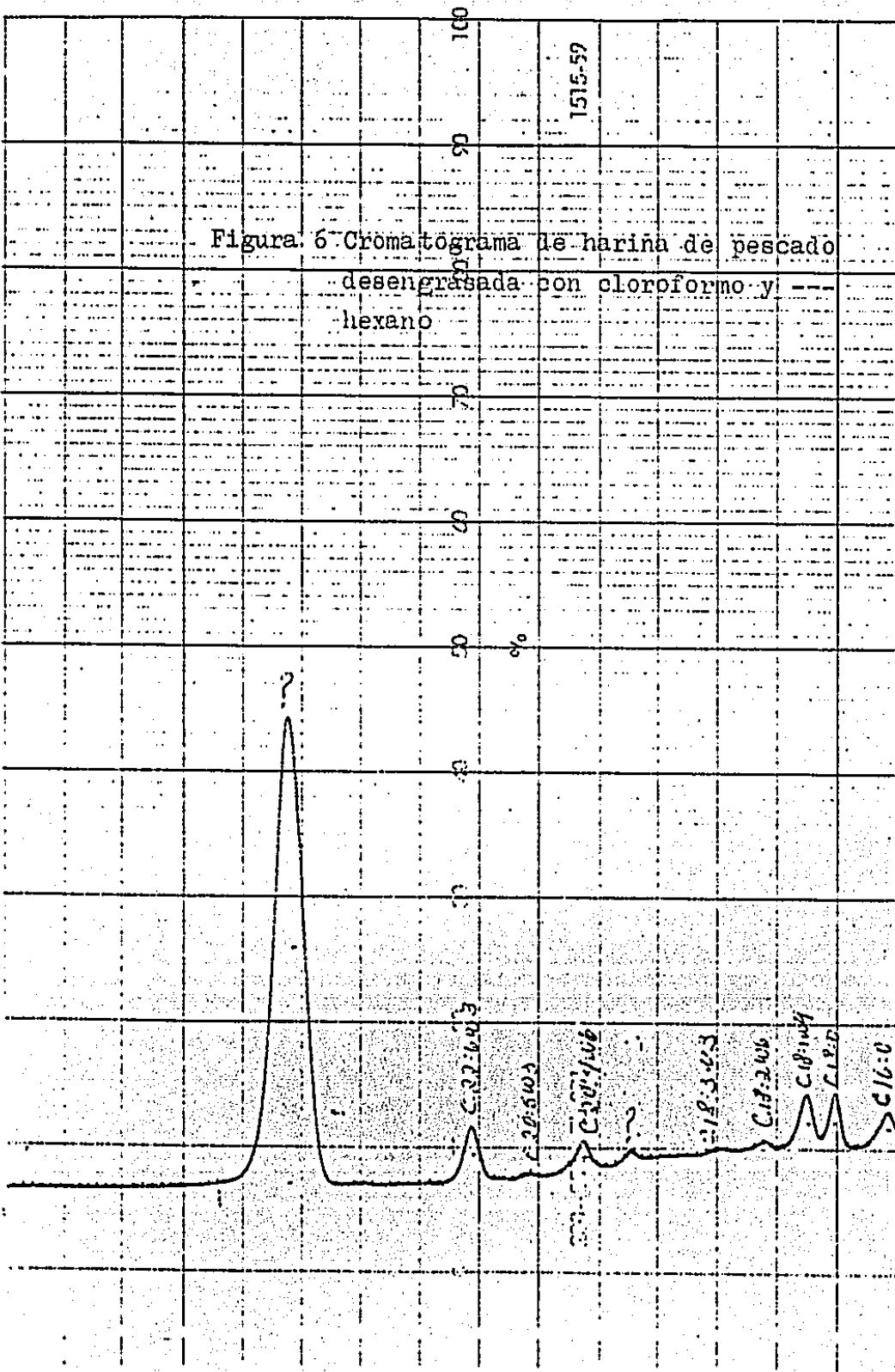
La suma de los porcentos de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la harina de pescado con 2.71% de grasa no es el 100% debido a que hubo un pico al final del cromatograma que no se pudo identificar, posiblemente se trate de algún esteroil o a algún compuesto producido por descomposición de ácidos grasos (ver Fig. 6).

La Fig. 7 muestra el cromatograma de la harina de pescado con 4.67% de grasa.

Figura 7. Cromatograma de harina de pescado desengrasada con cloroforno



Figura. 6 Cromatograma de harina de pescado
desengrasada con cloroformo y
hexano



Aunque no se realizó el análisis proximal de las dietas experimentales (excepto en la dieta comercial), la composición en base seca - de éstas, de acuerdo con los ingredientes agregados, fué calculada - teóricamente (a continuación se da un ejemplo de como se calcularon) presentándose en la Tabla 3.3.

Ejemplo. Para determinar el contenido de proteína en la dieta 6 de - manera teórica, se realizaron los siguientes pasos:

Cantidad de proteína en la harina de pescado original: 61.30%

Cantidad de proteína en la harina de pescado en base seca: 68.90%

Cantidad de proteína en harina de pescado con \$.67% de grasa: 70.91%

En la dieta 6 se colocaron 44.1% de harina de pescado con 4.67% - de grasa.

Contenido de proteína en el salvado: 15.70%

Contenido de proteína en el salvado en base seca: 17.74%

En la dieta 6 se colocaron 39.05% de salvado.

Estas dos materias primas son las únicas que aportan proteínas a la dieta, entonces:

$44.1\%(0.7091) + 39.05\%(0.1774) =$ % de proteína en la dieta
 $31.27\% + 6.93 = 38.20\%$ de proteína.

Tabla 3.3 Composición en base seca de las dietas elaboradas experi-
 mentalmente

Componente	Cantidad
	%
Proteína cruda	38.2
Grasa ^a	17.4
Fibra dietética	5.7
Cenizas	13.0
Vitaminas	1.4
Carboximetilcelulosa	1.3
Carbohidratos digeribles por diferencia	23.0

^a La dieta sin grasa añadida (dieta 1) contenía 2.32% de grasa

Con las determinaciones de los ésteres metílicos de ácidos grasos de los lípidos de las materias primas, se calculó también el contenido de ácidos grasos polinsaturados w3 y w6 presentes en las dietas experimentales. Estos valores se muestran en la Tabla 3.4. A continuación se da un ejemplo de este cálculo.

Ejemplo para calcular el contenido de ácidos grasos w3 en la dieta 6:

Se suman los porcentajes de ácidos grasos w3 de las tres materias primas que proveen estos ácidos

Acido graso	Harina de pescado con 4.67% de grasa	Salvado	Aceite de hígado de bacalao
C18:3w3	9.4%	5.9%	17.6%
C20:5w3	7.0	----	9.9
C22:w3	<u>3.1</u>	<u>----</u>	<u>9.6</u>
Total	19.5%	5.9%	37.1%

Los totales se multiplican por el aporte de grasa de cada materia a la dieta (la harina de pescado con 4.67% de grasa aporta el 2.059% de la grasa de la dieta), y se suman.

Harina de pescado con 4.67% de grasa:	$2.059\%(0.195) = 0.40\%$
Salvado:	$1.3\%(0.059) = 0.07$
Aceite de hígado de bacalao:	$14.1\%(0.371) = 5.23$
Total	<u>5.70%</u>

Tabla 3.4 Cantidad de ácidos grasos polinsaturados w3 y w6 en las dietas experimentales

Tratamiento	Familia de Acidos Grasos Polinsaturados	
	w3	w6
	%	
1	0.11	0.90
2	0.23	0.44
3	0.11	1.38
4	1.23	1.81
5	3.76	1.94
6	5.70	2.04

La Tabla 3.5 muestra los resultados del bioensayo, el índice de mortandad y el contenido de grasa en la porción comestible de las truchas alimentadas con las diferentes dietas.

Tabla 3.5 Ganancia promedio en peso, índice de mortandad y contenido de grasa en la porción comestible de las truchas

Dietas	Semanas					Peso final promedio de las truchas	Índice de mortandad	Contenido ^a de grasa
	2	4	6	8	10			
			g			g	%	%
1	-4.5	15.7	6.5	15.8	2.2	118.9	38.8	1.72
2	15.7	9.8	8.2	22.2	13.2	158.0	27.7	4.89
3	16.0	4.5	14.0	11.9	10.9	148.5	5.5	4.38
4	17.0	14.0	21.9	21.2	19.3	178.3	0.0	5.23
5	11.7	6.0	15.7	9.3	12.9	149.7	16.6	4.97
6	15.8	11.1	20.3	7.5	9.8	155.2	0.0	3.90

^a Promedio de dos determinaciones

El análisis por cromatografía de gases de los ésteres metílicos - de ácidos grasos de los lípidos en la porción comestible de las truchas tratadas con las diferentes dietas, se presenta en la Tabla 3.6. Cada valor es la media de dos determinaciones y no difirieron en más de 10% entre ellas.

La Tabla 3.7 muestra la relación entre ácidos grasos polinsaturados w3/w6 encontrados en los lípidos de la porción comestible de truchas tratadas con las diferentes dietas. Se muestra así mismo la conversión de alimento aparente.

Tabla 3.6 Contenido de ésteres metílicos de ácidos grasos en la porción comestible de truchas arcoiris alimentadas con diferentes dietas^a

Acido graso	Dietas					
	1	2	3	4	5	6
	%					
C10:0	nd	nd	1.18	0.93	0.37	0.09
C12:0	0.40	0.34	20.35	14.67	5.85	1.68
C14:0	2.24	2.14	11.86	8.40	4.61	3.15
C14:1	0.28	0.29	0.41	0.54	0.47	0.46
C16:0	15.26	17.38	15.23	12.10	18.43	14.02
C16:1	9.33	7.68	6.93	5.71	7.02	7.37
C18:0	4.63	6.38	3.99	5.07	4.08	4.50
C18:1w9	31.25	27.40	19.34	21.59	21.41	26.87
C18:2w6	10.22	14.22	6.93	7.89	9.04	10.23
C18:3w3	3.44	3.93	2.06	4.14	6.90	7.60
C20:1	2.60	2.60	1.28	2.20	2.05	1.78
C22:1	1.83	2.18	1.03	2.76	3.33	3.96
C20:4w6	2.55	2.13	1.43	1.25	1.19	1.03
C20:5w3	4.45	4.00	3.66	3.25	2.86	2.92
C24:1	1.78	1.40	0.63	0.78	0.89	0.80
C22:5w3	0.57	nd	0.61	0.93	0.92	0.94
C22:6w3	9.16	7.94	3.06	7.75	10.57	12.60

^a nd_ no detectado

Tabla 3.7 Relación de ácidos grasos polinsaturados w3/w6 en la porción comestible de truchas alimentadas con las diferentes dietas y conversión de alimento aparente

Dietas	Relación de ácidos grasos polinsaturados w3/w6	Conversión de alimento aparente (g de peso ganado/g de alimento suministrado)
1	1.44	0.144
2	0.97	0.233
3	1.12	0.235
4	1.76	0.294
5	2.07	0.211
6	2.13	0.219

En la Tabla 3.8 se muestra el contenido de ácidos grasos w3 y w6 calculados en porciento de la porción comestible de las truchas tratadas con las diferentes dietas. Este cálculo se realiza de la siguiente manera: Se suman los ácidos grasos en % de la fracción lipídica de la porción comestible, se multiplican por el contenido de grasa en dicha porción y se dividen entre 100.

Ejemplo.

Para ácidos grasos w3 en la porción comestible de las truchas tratadas con la dieta 6;

Suma de ácidos grasos w3 = 24.06%

Contenido de grasa en dicha porción = 3.90%

$3.90\% \times (24.06) / 100 = 0.94\%$

Tabla 3.8 Contenido de ácidos grasos w3 y w6 en porciento de la --
porción comestible de las truchas tratadas con las dife-
rentes dietas

Dieta	Familias de ácidos grasos polinsaturados	
	w3	w6
	%	
1	0.30	0.21
2	0.77	0.80
3	0.41	0.36
4	0.84	0.48
5	1.05	0.51
6	0.94	0.44

Los valores del índice de TBA obtenidos de las diferentes dietas antes y después del experimento biológico se pueden apreciar en la Tabla 3.9. Los valores son el promedio de dos determinaciones y no difirieron más del 10% entre ambas. Para comprobar el método, se -- realizó esta prueba un mes después sobre el alimento comercial y se encontró un valor de TBA de 6.23 \pm 0.055.

Tabla 3.9 Índice de TBA en las diferentes dietas antes y después del experimento biológico

Dieta	No. de TBA (mg de malonaldehido/kg de alimento)	
	Inicial	Final
1	4.95	5.00
2	3.93	4.69
3	4.85	7.53
4	4.99	6.30
5	4.79	7.50
6	5.18	9.79

CAPITULO IV. DISCUSION.

Cantidad de Nutrientes en las Dietas.

La cantidad de proteína en las dietas experimentales es de acuerdo a la bibliografía, adecuada para satisfacer los requerimientos de trucha arcoiris utilizada en este trabajo. La mayoría de los autores fijan este requerimiento en 40%, pero este requerimiento disminuye a 35% cuando el pez alcanza un año de vida (Vázquez y Avilés, 1987; Cowey et al., 1981; Lee y Putman, 1973; Cho et al., 1976 y NCR., 1973)

Solo las dietas 4, 5 y 6 llenaban los requerimientos de ácidos grasos polinsaturados ω_3 , el cual es de un 1% en la dieta (Castell et al., 1972a; Yu y Sinnhuber, 1972 citado por Cowey et al., 1976; NRC., 1973). El contenido de grasa en las dietas 3, 4, 5 y 6 era el adecuado para alimentos comerciales para truchas arcoiris (NRC., 1973; Vázquez y Avilés, 1987).

La concentración de carbohidratos digeribles en la dieta no debe ser mayor de 20%, ya que a niveles mayores se pueden producir hepatomas en el pez (NCR., 1973). Sin embargo, Vázquez y Avilés proponen que la dieta puede contener hasta un 25% de carbohidratos digeribles (Vázquez y Avilés, 1987). Tanto las dietas experimentales como el alimento comercial superan el 20% de carbohidratos, pero no exceden del 25%.

Las truchas alimentadas con la dieta sin grasa adicionada mostraron al morir el tracto gastrointestinal lleno, debido quizás a la cantidad de celulosa presente en la dieta. El contenido de fibra cruda en la dieta no debe ser mayor del 4%, ya que se impediría el vaciado del contenido intestinal (NCR., 1973; Vázquez y Avilés, 1987).

Casi todas las vitaminas se añadieron a las dietas experimentales en las cantidades recomendadas para la trucha arcoiris (NRC., 1973; Vázquez y Avilés, 1987; Barnett et al., 1982; Hung et al., 1982; Hilton, 1983; Tucker y Halver, 1984; Hughes, 1984). Sin embargo, quizás hubo un exceso de vitaminas A y D, ya que el aceite de bacalao las contiene en cantidades importantes. No se cubrieron los requerimientos de inositol, debido a que era muy costoso, pero la

fitasa del salvado puede producir algo de este compuesto al actuar sobre el ácido fítico. La deficiencia en inositol puede causar lesiones en piel y aletas, pérdida de la aleta caudal, crecimiento pobre, poco apetito, edema, anemia y mortalidad alta. Ninguno de estos síntomas se observaron. Se requieren 0.25 g de i-inositol/kg de dieta.

Selección de Peces.

Durante la selección de peces se cometió el error de escogerlos de acuerdo con su talla y no a su peso. Se hizo de esta manera debido a la facilidad de selección y por falta de conocimiento en el manejo de peces. Esto puede traer diferencias en la ganancia en peso de los peces. La edad de las truchas era de aproximadamente un año.

Como solo se contaba con seis canaletas, se pensó dividir cada canaleta en tres con seis peces cada parte, pero los peces sufrían de stress y comenzaban a saltar, por lo que se decidió no dividir las canaletas.

Contenido de Grasa en la Porción Comestible.

La cantidad de grasa encontrada en la porción comestible de truchas alimentadas con la dieta 1 fue la más baja, esto es comprensible pues al no tener la fuente más rica de energía, tiene que hacer uso de sus reservas de lípidos en los músculos blanco y oscuro.

Se observó también que la dieta 6, rica en aceites de pescado, produjo la segunda menor concentración de lípidos en la porción comestible de trucha. Este efecto se puede deber a que la trucha asimila más fácilmente los aceites que las grasas saturadas, metabolizándolos y empleándolos rápidamente como fuente de energía. Esta observación se relaciona con las realizadas por Castell et al., (1972a) en el sentido de que la dieta rica en ácidos grasos ω3 produjo el contenido más bajo de lípidos totales en hígado de trucha arcoiris.

Ganancia Promedio en Peso de Truchas.

En el bioensayo cada lote de peces fué pesado en conjunto, por consecuencia la posibilidad de evaluar estadísticamente estos resultados no fué posible.

En la Tabla 3.5 se muestra que la mejor ganancia en peso y un índice de mortandad nulo, correspondió a las truchas alimentadas con la dieta 4. Esto posiblemente se deba a que cubría los requerimientos de ácidos grasos esenciales y contenido de grasa en la dieta.

La dieta 3 produjo una ganancia en peso baja, pero tuvo un índice de mortandad bajo. Esto se puede deber a que no cubría los requerimientos de ácidos grasos esenciales para trucha arcoiris.

La segunda mejor ganancia en peso promedio fué para las truchas alimentadas con la dieta 2 (alimento comercial), pero presentó un alto índice de mortandad debido quizás a la carencia de algunos nutrientes como vitaminas hidrosolubles. En experimentos paralelos, llevados a cabo por Macouzet et al. (1988), encontraron que la dieta comercial carecía de tiamina.

Las dietas 5 y 6, las más ricas en ácidos grasos ω_3 y de las que se esperaba produjeran un crecimiento más rápido, produjeron una ganancia en peso regular. Esto quizás se debió a que estas dietas son más susceptibles a la oxidación de los ácidos grasos polinsaturados que contenían, lo cual causa retardo en el crecimiento y envenenamiento de los peces.

La dieta 1 produjo la menor ganancia promedio en peso y el mayor índice de mortandad en trucha, lo cual era lo esperado.

Acumulación de Ácidos Grasos ω_3 en la Porción Comestible.

Las truchas alimentadas con la dieta 1 (sin grasa añadida), aunque tuvieron el contenido de grasa más bajo en la porción comestible, estos lípidos contenían cantidades importantes de $C_{20:5\omega_3}$ y $C_{22:6\omega_3}$. Sin embargo, el contenido de ácidos grasos ω_3 en por ciento de la porción comestible fué el más bajo (ver Tabla 3.8). Esto puede deberse a que el metabolismo de la trucha impida el consumo de estos ácidos como fuente de energía y el ser depletados en los tejidos, y utilice otros ácidos grasos no esenciales.

Se observó que a medida que los niveles de aceite de hígado de -- bacalao se elevaban en la dieta, aumentó la concentración de C22:6w3 en la porción comestible, mientras que la concentración de C22:5w3 -- en dicha porción disminuyó ligeramente. Esto indica que la trucha ar coiris alarga e insatura el C18:3w3 y el C20:5w3 de la dieta a ----- C22:6w3.

Se observó también que a mayor concentración de aceite de hígado de bacalao en la dieta, disminuyó el nivel de C20:4w6 en la porción comestible, mientras que se elevaba el nivel de C18:2w6. Esto posi-- blemente se deba a que el metabolismo de los ácidos grasos w3 inhi-- ben la transformación de C18:2w6 a C20:4w6, por competencia del sis-- tema enzimático.

En la Tabla 3.7 se puede ver que a mayores niveles de ácidos gra-- sos w3 en la dieta, la relación de ácidos grasos polinsaturados w3/ w6 aumenta, que de acuerdo a la literatura llevan a un mejor estado antitrombótico. Sin embargo, en la Tabla 3.8 se puede observar que -- la acumulación de ácidos grasos w3 en por ciento de la porción come-- g tible aumenta conforme aumenta el contenido de aceite de pescado en la dieta pero hasta cierto punto, posiblemente por la saturación de los sistemas enzimáticos.

CAPITULO V. CONCLUSIONES.

- 1.- El tipo de grasa en la dieta afecta la composición de ácidos grasos en la porción comestible de trucha arcoiris. Cuando se añadió grasa de coco, los niveles de ácido láurico aumentaron en la porción comestible, y el C22:6w3 aumentó cuando se añadió aceite de pescado en las dietas.
- 2.- Las dietas con mayor contenido de aceite de pescado (dietas 5 y 6) produjeron la mayor acumulación de C22:6w3 en la porción comestible del pez, pero no produjeron la mejor ganancia en peso de los peces.
- 3.- La acumulación de ácidos grasos w3 en la porción comestible del pez se elevó conforme aumentaba el contenido de aceite de pescado en las dietas, pero esto fué hasta cierto punto, ya que el exceso de estos ácidos que no entran en la composición de los fosfolípidos de las membranas, son usados como fuente de energía.
- 4.- La trucha arcoiris no es una buena fuente de C20:5w3, ya que casi todo este ácido lo convierte en C22:6w3.
- 5.- El aumento de aceite de pescado en las dietas produjo una --disminución en el contenido de C20:4w6 en la porción comestible del pez.

CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA.

Anding, R.H. and Hwang, D.H. (1986). Effects of dietary linolenate of the fatty acid composition of brain lipids in --- rats. *Lipids* 21,697-701.

Anuario Estadístico de Pesca (1980-1981). Dirección General de Planeación, Informática y Estadística. Departamento de -- Pesca.

Association of Official Agricultural Chemists (A.O.A.C.) -- Official Methods of Analysis. Washington, D. F., U.S.A. 1984.

Bang, H.O., Dyerberg, J. & Nielsen, A. (1971). Plasma lipid -- and Lipoprotein pattern in Greenlandic West-Coast Eskimos. -- *Lancet-i*, 1143-1146.

Barcelli, U.O., Miyata, J., Ito, Y. Gallon, L., Laskarzewski, P. Weiss, M., Hitzemann, R. and Pollac, V.E. (1986). Benefi-- cial effects of polyunsaturated fatty acids in partially --- nephrectomized rats. *Prostaglandins* 32,211-219.

Barnett, B.J., Jones, G., Cho, C.Y. and Slinger, S. J. (1982). The biological activity of 25-hydroxicholecalciferol and 1,25 dihydroxicholecalciferol for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.* 112,2020-2026.

Bligh, E.F. and Dyer, W.H. (1959). A rapid method of total -- lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37,909-917.

Bruckner, G.C., Lokesh, B., German, B. and Kinsella, J. E. - (1984). Biosynthesis of prostanoids, tissue fatty acid composition and thrombotic parameters in rats fed diets enriched -- with docosahexaenoic or eicosapentaenoic acids. *Throm. Res.--* 34,479-497.

Carrol, K.K. (1984). Role of lipids in tumorigenesis. *J. Am - Oil Chem. Soc.* 61,1888-1891.

Castell, J.D., Lee, D. J. and Sinnhuber, R. O. (1972). Essen-- tial fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*); lipid metabolism and fatty acid composition. *J. Nutr.* 102, 93-100.

Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. and Lee, D. J.-- (1972a). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Growth, feed conversion and some gross -- deficiency symptoms. J. Nutr. 102,77-86.

Castell, J. D., Sinnhuber, R. C., Lee, D. J. and Wales, J. H. (1972b). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout - (*Salmo gairdneri*): Physiological symptoms of EFA deficiency.-- J. Nutr. 102,87092.

Chanmugan, P., Baudreau, M. and Hwang, D. H. (1986). Diffe--- rences in the w3 fatty acids contents in pond-reared and wild fish and shellfish. J. Food Sci. 51,1556-1557.

Cho, C.Y., Slinger, S. J. and Bayley, H.S. (1976). Influence - of level and type of dietary protein, and of level of feeding of feed utilization by rainbow trout, J. Nutr. 106,1547-1556.

Cowey, C. B., Cooke, D. J., Matty, A. J. and Adron, J. W. --- (1981). Effects of quantity and quality of dietary protein -- on certain enzyme activities in rainbow trout. J. Nutr. 111,- 336-345.

Cowey, C. B., Owen, J. M., Adron, J. W. and Middleton. C. (1976). Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of --- different dietary fatty acids on the growth and fatty acid --- composition of turbot (*Scophthalmus maximus*). Br. J. Nutr. 36,- 479-486.

Croft, K.D., Bellin, L. J., Vandongen, R. and Mathews, E. (1984). Dietary modification of fatty acids and prostaglandins synthe- sis in the rat. Biochem. Biophys. Acta 795,196-207.

Cueto, L., Barrios, R. Pérez, G. C., Alba, M. y García I. (1987). Prevención de arterosclerosis coronaria: (I.-Conceptos Patológi- cos y etiopatogénicos básicos). Arch. Inst. Cadiol. Méx. 57,331- 336.

Culp, B. R., Lands, W.E.M., Lucchesi, B.R., Pitt, B. and Romson, J. (1980). The effects of dietary supplementation of fish oil on experimental myocardial infarctions. *Prostaglandins* 20,1021-1030.

Dyerberg, J. and Bang, H.O.(1978). Dietary fat and thrombosis. *Lancet* ii,152.

Dyerberg, J. and Bang, H.O. (1979). Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* Sept.,ii,433-435.

Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffersen, E., Moncada, S. and Vane, J. R.(1978). Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and arterosclerosis. *Lancet* ii, 117-119.

Dyerberg, J., Jorgensen, K.A. and Arnfred, T.(1981). Human umbilical blood vessel converts all cis-5,8,11,14,17 eicosapentaenoic acid to prostaglandin I₃. *Prostaglandins* 22,-857-862.

Fischer, S. C., Von Schacky, W., Siess, T., Strasser and Weber, P.C.(1984). Uptake, release and metabolism of decosahexaenoic acid in human platelets and neutrophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 120,907-918.

Fischer, S. and Weber, P. C.(1984). Prostaglandin I₃ is formed in vivo in man after dietary eicosapentaenoic acid. *Nature* 307,165-168.

Fischer, S., Weber, P.C. and Dyerberg, J.(1986). The prostacyclin/thromboxane balance is favourably shifted in Greenland Eskimos. *Prostaglandins* 32,235-241.

FONDEPESCA. La trucha y su cultivo. México 1985.

Glomset, A.J. (1985). Fish, fatty acids and human health. *New Eng. J. Med.* 312,1253-1254.

Hamilton, G. Analysis of fats and oils. Academic Press,1987. New York.

Hart, H. L. y Fisher, H. J. Análisis Moderno de los Alimentos. Ed. Acribia 1971. Zaragoza, España.

Herold, P. M. and Kinsella, J. E. (1986). Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J. Clin. Nutr.* 43, 566-598.

Hilton, J.W. (1983). Hypervitaminosis A in rainbow trout -- (*Salmo gairdneri*): Toxicity signs and maximum tolerable -- level. *J. Nutr.* 113, 960-965.

Hughes, S. G. (1984). Effect of excess dietary riboflavin -- on growth of rainbow trout. *J. Nutr.* 114, 1660-1663.

Hung, S.S.O., Moon, T. W., Hilton, J. W. and Slinger, S.J. (1982). Uptake, Transport and distribution of DL- α -tocopheryl acetate compared to D- α -tocopherol in rainbow ---- trout (*Salmo gairdneri*). *J. Nutr.* 112, 1590-1599.

Kaneda, T. and Alfin-Slater, R. B. (1963). A comparison of the effects of the polyunsaturated fatty acids of cuttle-- fish liver oil and cottonseed oil on cholesterol metabolism. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 40, 336-338.

Kinsella, J. D. (1981). Dietary fat and prostaglandins: possible beneficial relationships between food processing and -- public health. *Food Technol.* 35(5), 89-98.

Kinsella, J. E. (1986). Food components with potential therapeutic benefits: The n-3 polyunsaturated fatty acids of --- fish oils. *Food Technol.* 40(2), 89-97.

Kobatake, Y., Kuroda, K., Jinnouchi, H., Nishide, E. and Inna mi, S. (1984). Differential effects of dietary eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids on lowering of triglyceride- and cholest \bar{e} rol levels in the serum of rats on hypercholeste rolemic diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* 30, 357-372.

Kristensen, S. D., Berg, S. E., Anderson, H. R. and Dyerberg, J. (1987). Fish oil in angina pectoris. *Arteriosclerosis* 64, 13-19.

Kromhout, D., Bosschieter, E. B. and de Lezenne Coulander, C. (1985). The inverse relation between fish consumption and -- 20-year mortality from coronary disease. *N. Eng. J. Med.* 312, 1205-1209.

Lee, D. J. and Putnam, G. B. (1973). The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. *J. --- Nutr.* 102,916-922.

Lee, J.D., Roehm, J. N. Yu, T. C. and Sinnhuber, R. O. (1967). Effect of w₃ fatty acids on the growth-rate of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *J. Nutr.* 92,93-98.

Lee, T.H., Mencia-Huerta, J. M., Shih, C., Corey, E.J., Lewis, R.A. and Auten, F. (1984). Effects of exogenous arachidonic, - eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on the generation - of 5-lipoxygenase pathway products by ionophore-activated --- human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 74,1922-1933.

Lee, T. H. Richard, M. D., Hoover, R.L. Williams, J. D. and -- Corey, W. (1985). Effect of the dietary enrichment with ----- eicosapentaenoic and docosahexaenoid acids on in vitro neutro phil function. *New Eng. J. Med.* 312, 1217-1224.

Lorenz, R., Spingler U., Fischer, S., Duhm, J. and Weber, P. (1983). Platelet function, thromboxane formation and blood -- pressure control during supplementation of the western diet -- with cod liver oil. *Circulation* 67(3),504-511.

Macouzet, M., Barrios T. y Tovar L.R. (1988). Comunicación perso-
nal.

Morita, I., Takahashi, R., Saito, Y. and Musota, S. (1983). -- Effects of eicosapentaenoic acid on arachidonic acid metabo-- lism in culture vascular cells and platelets: Species diffe-- rence. *Thromb. Res.* 31,211-217.

Montgomery, R., Dryer, R. L., Conway, T.W. and Spector, A.A. - *Biochemistry* 4th. Edition 1983. The C.V. Mosby Company.

Mouri, K., Ikeda, H., Esaka, T. and Igarashi, O. (1984). The influence of marine oil intake upon levels of lipids, tocopherol and lipid peroxidation in serum and liver of rats. - J. Nutr. Sci. Vitaminol 30, 307-318.

National Research Council (1973). Nutrient requirements of trout, salmon and catfish. National Academy of Sciences, Washington, D. C.

Nestel, P.J., Connor, W.E., Reardon, M. N., Connor, S., Wong, S. & Boston, R. (1984). Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. J. Clin. Invest. 74, 82-89.

Neuringer, M., Connor, W. E., Van Petten, C. & Barstad, L. (1984). Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infant Rhesus Monkeys. J. Clin. Invest. 73, 272-276.

Owen, J. M., Adron, J.W., Middleton, C. & Cowey, C. B. (1975). Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot, *Scophthalmus maximus* L and rainbow trout, *Salmo gairdneri* rich. Lipids 10, 528-531.

Phillipson, B. E., Rockock, D. W., Connor, W.E., Harris, W.S. & Illinworth, D. R. (1985). Reduction of plasma lipids, lipoproteins and apoproteins by dietary fish in patients with hypertriglyceridemia. N. Eng. J. Med. 312, 1210-1216.

Prescott, S. M. (1984). The effect of eicosapentaenoic acid on the leukotriene B production by human neutrophils. J. Clin. Invest. 74, 1922-1933.

Samuelsson, B., Dahlen, A. E., Lindgren, J. A., Rouzer, C. A. & Serhan, C. N. (1987). Leukotrienes and Lipoxins: Structures, Biosynthesis and biological effects. Science 238, 1171-1176.

- Sanders, T.A.B., Ellis, F. R. & Dickerson, J. W. T. (1977). Polyunsaturated fatty acids and the brain. *Lancet* i, 752.
- Sanders, T.A.B. & Hochland, M. C. (1983). A comparison of -- the influence on plasma lipids and platelet function of --- supplements of w3 and w6 polyunsaturated fatty acids. *Brit. J. Nutr.* 50, 521-529.
- Sanders, T.A.B. & Naismith, J. D. (1979). A comparison of - the influence of breast-feeding and bottle-feeding on the-- fatty acid composition of the erythrocytes. *Brit. J. Nutr.* - 41, 619-623.
- Sanders, T.A.B. & Younger, K. M. (1981). The effect of ---- dietary supplements of w3 polyunsaturated fatty acids on -- the fatty acid composition of platelets and plasma choline-phosphoglycerides. *Brit. J. Nutr.* 45, 613-616.
- Siess, W., Sherer, B., Bohlig, B., Roth, P., Kurzmann, S. & Weber, P. C. (1980). Platelet-membrane fatty acids, pla-- telet aggregation and thromboxane formation during a macke- rel diet. *Lancet* i, 441-444.
- Singer, P., Berger, I., Wirth, M., Golicke, W., Jaeger, W. & Voigt, S. (1986). Slow desaturation and elongation of li- noleic and linolenic acids as a rationale of eicosapenta--- enic acid rich diet to lower blood pressure and serum li-- pids in normal, hypertensive and hyperlipemic subjects. --- *Prost. Leuk. Med.* 24, 173-193.
- Slavin, M. *Chemical Analysis*. Vol. 25. Atomic Absorption -- Spectroscopy. 2nd. Edition. 1978. Willey Interscience.
- Socini, A., Galli, C., Colombo, C. & Tremoli, E. (1983). -- Fish oil as a supplement to a corn oil containing diet ---- affects arterial prostacyclin production more than platelet aggregation in the rat. *Prostaglandins* 25, 693-710.

- Spector, A. A., Kaduce, T. L., Fegard, P. H., Norton, K. C., Hoak, J. C. & Czercionke, R. L. (1983). Eicosapentaenoic acid and protacyclin production by cultured endothelial cells. *J. Lipid Res.* 24, 1595-1604.
- Stanby, M. E. (1967). Misconceptions about nutritional properties of fish oils. Circular 280. U.S. Department of the Interior, Washington, D.C.
- Strasser, T., Fischer, S. & Weber, P. C. (1985). Leukotriene B_5 is formed in human neutrophils after dietary supplementation with eicosapentaenoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82, 1540-1543.
- Supelco Handbook of Lipids, Carbohydrates, Amino Acids and Reagents. 3rd. Edition 1978. Supelco Inc.
- Tarladgis, B. J., Watts, B. M., Younathan, M. T. & Dugan, R.L. (1960). A distillation method for quantitative determination of malonaldehyde in rancid oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37, 44.
- Thorngren, M. & Gustafson, A. (1981). Effects of 11-weeks increase in dietary eicosapentaenoic acid on bleeding time, lipids and platelet aggregation. *Lancet* ii, 1190-1193.
- Tovar, R.L. & Kaneda, T. (1977). Comparative toxicities of low molecular weight compounds in autoxidized methyl linoleate. *Yukagaku (Japan)* 26, 169-172.
- Tucker, B. W. & Halver, J. E. (1984). Distribution of ascorbate-2-sulfate, half-life and turnover rates of $(1-^{14}C)$ ascorbic acid in rainbow trout. *J. Nutr.* 114, 991-1000.
- Van Soest, J. P. & Wine, R. H. (1967). Use of detergents in analysis of fibrous food. The determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* 50, 50-65.
- Vázquez-Hurtado, M. y Avilés-Quevedo, S. (1987). Guía práctica de nutrición y elaboración de dietas balanceadas para trucha arcoiris. Secretaría de Pesca. Departamento General de Acuicultura, México.

Von Schacky, C., Fischer, S. & Weber, P. C. (1985a). Long -- term effects of dietary marine w3 fatty acids upon plasma -- and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid forma -- tion in humans. J. Clin. Invest. 76,1626-1631.

Von Schacky, C., Siess, W., Fischer, S. & Weber, P. C. ----- (1985b). A comparative study of eicosapentaenoic acid metabo -- lism by human platelets in vivo and in vitro. J. Lipid Res.-- 26, 457-464.

Von Schacky, C. & Weber, P. C.(1985). Metabolism and effects on platelet function of the purified eicosapentaenoic and -- docosahexaenoic acids in human. J. Clin. Invest.76, 2446---- 2450.

Weber, P.C. (1987). Dietary (n-3) fatty acids and eicosanoid formation. Biblithea. Nutr. Diets 40, 42-50.

Weber, P. C., Fischer, S., Von Schacky, C. Lorenz, R. & ---- Strasser, T. (1986). Dietary omega-3 polyunsaturated fatty -- acids and eicosanoid formation in man. Health effects of --- polyunsaturated fatty acids in seafoods. Academic Press Inc.

Williams, J. C., Fields, R. A. & Miller, G.C. (1983). Evalua -- tion of TBA methods for determination of lipid oxidation. J. Ed. Sci. 48, 1776-1782.

Yagi, K. (1982). "Lipid peroxides in biology and medicine".-- Academic Press, New York.