68 2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

USO DE UN HIDROLIZADO ENZIMATICO DE PROTEINA DE PESCADO PARA COMPLEMENTAR DIETAS A BASE DE MAIZ.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

GABRIELA ISUNZA RUIZ

MEXICO, D. F. 1990

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

Resumen I
1. Introducción..... 1
1.1 Disponibilidad de aminoácidos..... 1
1.2 Biodisponibilidad..... 1
1.3 Balance de nitrógeno..... 3
1.4 Metabolismo de las proteínas..... 3
1.4.1 Digestión..... 3
1.4.2 Absorción..... 5
1.5 Evaluación nutricional de proteínas..... 5
1.5.1 Métodos biológicos..... 6
1.5.1.1 Valor Biológico (VB)..... 6
1.5.1.2 Coeficiente de relación de eficiencia protéica (PER)..... 8
1.5.1.3 Coeficiente de relación neta de proteína (NPR)..... 9
1.5.1.4 Coeficiente de utilización neta de proteína (NPU)..... 9
1.5.1.5 Métodosde pendiente o de dosis múltiples de proteína..... 10
1.5.2 Métodos químicos..... 10
1.5.2.1 Valor Químico..... 11
1.5.2.2 Disponibilidad de aminoácidos..... 11
1.5.3 Métodos varios..... 12
1.5.3.1 Proteínas del hígado y enzimas..... 12
1.5.3.2 Métodos microbiológicos.....12
1.5.3.3 Contenido de aminoácidos en la sangre..... 12
1.6 Maíz Nixtamalizado..... 13
1.6.1 Importancia del maíz desde el punto de vista de su aporte protéico y energético..... 14
1.6.2 Antecedentes históricos..... 14
1.6.3 Cambios ocurridos al maíz durante el proceso de nixtamalización..... 14
1.6.4 Diferentes métodos para mejorar la calida nutricional del maíz.-..... 16
1.6.4.1 Suplementación con aminoácidos..... 17
1.6.4.2 Mejoras genéticas..... 17
1.6.4.3 Suplementación con proteínas..... 19

1.7 El pescado..... 19
1.7.1 El pescado como fuente de proteína..... 19
1.7.2 Industria pesquera..... 19
1.7.3 Nuevas tecnologías..... 22
1.7.3.1 Harinas de pescado..... 22
1.7.3.2 Concentrados de proteína de pescado..... 24
1.7.3.3 Aislados de proteína de pescado..... 25
1.7.3.4 Hidrolizados de proteína de pescado..... 25
1.7.4 Usos de los hidrolizados de proteína de pescado..... 26
1.7.4.1 Alimentación animal..... 26
1.7.4.2 Alimentación humana..... 28
1.8 Justificación..... 29
2. HIPOTESIS..... 30
3. OBJETIVOS..... 30
3.1 Objetivo general..... 30
3.2 Objetivos específicos..... 30
4. MATERIALES Y METODOS..... 31
4.1 Materiales..... 31
4.2 Dietas..... 31
4.3 Análisis químicos..... 33
4.4 Análisis biológicos..... 33
4.4.1 Animales..... 33
4.4.2 Parámetros nutricionales..... 34
4.5 Determinación de lisina reactiva en las dietas experimentales..... 36
4.6 Análisis estadístico..... 36
5. RESULTADOS Y DISCUSION..... 41
6. CONCLUSIONES..... 56
7. BIBLIOGRAFIA..... 57
APENDICE..... 63

RESUMEN

En un experimento con el fin de mejorar el valor nutritivo de la tortilla se elaboraron dietas conteniendo diferentes proporciones de harina de maíz nixtamalizado y un hidrolizado de proteína de pescado.

Se hizo un experimento de evaluación nutricional con ratas a las que se alimentó con las dietas experimentales por un período de 28 días. Se determinó la ganancia de peso (GP), el coeficiente de relación de eficiencia protica (PER), el coeficiente de relación neta de proteína (NPR), la digestibilidad aparente del nitrógeno (DAN) y el % de lisina reactiva.

Las curvas de respuesta para cada una de las variables (GP, PER, NPR y DAN) fueron ajustadas por regresión.

Los resultados obtenidos mostraron un aumento en la ganancia de peso, el PER, y el NPR conforme aumentaba el contendido de hidrolizado de proteína de pescado en la dieta. La ganancia de peso aumentó 140%, el PER 60% y el NPR 30% cuando se reemplazó 20% de la proteína de maíz nixtamalizado por la proteína de pescado.

Se concluyó que es posible elevar significativamente el valor nutritivo de la tortilla incorporando pequeñas cantidades de un hidrolizado de proteína de pescado al maíz nixtamalizado.

1. INTRODUCCION

1.1 Disponibilidad de aminoácidos.

Las proteínas están constituídas a partir de 20 aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos originando secuencias características. Cada uno de estos aminoácidos poseen una cadena lateral diferente, este grupo de moléculas puede considerarse como el alfabeto de la estructura protéica (32). Los organismos vivientes se diferencían por su capacidad de sintetizarlos. La rata albina y el hombre pueden sintetizar únicamente 10 de los 20 aminoácidos que se necesitan para construir las proteínas. Estos 10 aminoácidos reciben el nombre de aminoácidos dispensables. Los otros 10 aminoácidos deben provenir de la dieta y se llaman aminoácidos indispensables ya que no existe la maquinaria metabólica que permita su síntesis o bien esta síntesis no es suficiente para cubrir los requerimientos mínimos. (cuadro 1), (32).

1.2 Biodisponibilidad.

Biodisponibilidad se define como la capacidad del organismo de utilizar un nutrimento. La biodisponibilidad de un aminoácido exige la digestión de la proteína en el intestino y la absorción de los aminoácidos (16).

La presencia de otros compuestos en la dieta y el tratamiento a que ha sido sometida la proteína afectan la biodisponibilidad de los nutrimentos.

El procesamiento puede aumentar la disponibilidad de aminoácidos, (ej.: cocción de proteínas del frijol, garbanzo, etc.) este incremento se debe a un aumento en la digestibilidad o a la destrucción de factores antinutricionales.

Con frecuencia el procesamiento puede disminuir la biodisponibilidad de los aminoácidos, por ejemplo: en la leche sometida a un tratamiento térmico severo la biodisponibilidad de la lisina disminuye (16).

Cuadro 1. Aminoácidos indispensables y dispensables para los humanos y la rata albina.

Indispensables	dispensables
Isoleucina	Glutamato
Leucina	Glutamina
Valina	Aspartato
Fenilalanina	Asparagina
Triptofano	Prolina
Treonina	Alanina
Lisina	Glicina
Metionina	Serina
Histidina*	Tirosina
Arginina*	Cisteína

* Son indispensables en los animales jóvenes en crecimiento pero no en los adultos.

Fuente: Leninhger, Bioquímica (32).

1.3 Balance de nitrógeno.

Debido a que las moléculas de proteína contienen una proporción de nitrógeno aproximadamente constante (16% aprox.), los términos nitrógeno y proteína a menudo se usan indistintamente. El análisis de nitrógeno es más conveniente en los estudios de metabolismo nitrogenado, ya que su determinación es sencilla y exacta. Por otro lado, La mayor parte del nitrógeno que consumimos proviene de las proteínas de la dieta y es excretado por la orina como urea, creatinina, amoníaco, ácido úrico y aminoácidos. Una parte significativa del nitrógeno de las materias fecales proviene de células de descamación intestinal y de la flora bacteriana.
En los seres humanos se observan excreciones de uno a dos gramos diarios de nitrógeno fecal. De la determinación de nitrógeno en la dieta y de nitrógeno urinario y fecal, se deriva el concepto de balance de nitrógeno. Si un animal adulto excreta diariamente una cantidad de nitrógeno igual a la ingerida, el balance de nitrógeno está en equilibrio, o sea, no hay diferencia entre lo ingerido y lo excretado. Cuando la ingestión de nitrógeno es mayor que la excreción, existe balance nitrogenado positivo. Cuando la excreción de nitrógeno por vía urinaria y fecal excede a la ingestión en la dieta, existe un balance nitrogenado negativo (30).

1.4 Metabolismo de las proteínas.

1.4.1 Digestión

Las proteínas ingeridas se hidrolizan enzimáticamente en sus aminoácidos constituyentes en el tracto gastrointestinal. Cuando la proteína llega al estómago, estimula la secreción de la gastrina, hormona que a su vez, estimula la secreción de ácido clorhídrico por las células parietales de las glándulas gástricas y del pepsinógeno por las células principales. El jugo gástrico muestra un pH entre 1.5 y 2.5, la acidez del jugo gástrico actúa como un antiséptico y mata a la mayor parte de las bacterias y otras células. Además, provoca que las proteínas globulares se desnaturalicen, desdoblándose, lo que favorece la hidrólisis enzimática de sus enlaces peptídicos. El pepsinógeno es un precursor inactivo o zimógeno que, por la acción enzimática de la pepsina, se convierte en pepsina activa en el jugo gástrico, constituyendo un ejemplo de autocatálisis. En el estómago, la pepsina hidroliza los enlaces peptídicos de las proteínas ingeridas que contienen tirosina, fenilalanina y triptofano entre otros, con lo que las largas cadenas polipeptídicas se escinden proporcionando una mezcla de péptidos menores.

A medida que el contenido ácido del estómago pasa al intestino delgado, el bajo pH provoca la secreción de la hormona secretina en la sangre. La secretina estimula al páncreas para que segregue bicarbonato en el intestino delgado a fin de neutralizar el ácido clorhídrico gástrico. El pH asciende entonces, de un modo brusco, desde 1.5 - 2.5 hasta alrededor de pH 7. La digestión de las proteínas continúa en el intestino delgado. La incorporación de los aminoácidos al duodeno estimula la secreción de enzimas proteolíticas y de peptidasas, cuyo pH óptimo se halla entre 7 y 8.

Tres de estas enzimas, tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa, son sintetizadas por las células exócrinas del páncreas en forma de sus zimógenos: el tripsinógeno, el quimotripsinógeno y la procarboxipeptidasa. La síntesis de estas enzimas en forma de precursores inactivos protege a las células exócrinas del ataque proteolítico que las destruiría. Después de que el tripsinógeno penetra en el intestino delgado se convierte en tripsina, su forma activa, por la acción de la enzima proteolítica enteroquinasa que es secretada por las células intestinales. La tripsina libre formada cataliza la conversión de tripsinógeno en tripsina, esta enzima hidroliza los enlaces peptídicos cuyos grupos carbonilo provienen de los restos de lisina y arginina.

El quimotripsinógeno, cuando llega al intestino delgado, se convierte en quimotripsina por acción de la tripsina. La quimotripsina hidroliza los enlaces peptídicos en los que intervienen restos de fenilalanina, tirosina y triptofano. La tripsina y la quimotripsina hidrolizan, por tanto, los polipéptidos resultantes de la acción de la pepsina en el estómago y originan péptidos mas pequeños. Esta fase de la digestión se efectúa con mucha eficacia ya que la pepsina, la tripsina y la quimotripsina poseen diferentes especificidades respecto a los aminoácidos al hidrolizar las cadenas polipeptídicas.

Otras peptidasas completan la degradación de los péptidos cortos en el intestino delgado. La carboxipeptidasa, enzima que contiene zinc, se sintetiza en el páncreas en forma de su zimógeno inactivo, la procarboxipeptidasa. La carboxipeptidasa hidroliza los residuos carboxiloterminales de los péptidos en forma sucesiva. El intestino delgado segrega tambin, una aminopeptidasa que hidroliza los restos aminoterminales, sucesivamente, de los péptidos cortos (32).

1.4.2 Absorción.

Mediante la acción secuencial de estas enzimas proteolíticas y de las peptidasas, las proteínas ingeridas se hidrolizan hasta formar una mezcla de aminoácidos y péptidos pequeños que son transportados a través de las células epiteliales que recubren las paredes del intestino delgado. Los aminoácidos libres penetran hasta los capilares sanguíneos de los vili y son transportados hasta el hígado. La absorción es un proceso activo y requiere energía, por lo tanto, puede bloquearse por anoxia o mediante la adición de inhibidores metabólicos (30).

Se ha reportado aque la absorción de los aminoácidos depende de la velocidad con que se desprenden de la molécula protéica durante la digestión. Es posible que la síntesis protéica disminuya si uno o varios aminoácidos no llegan en la proporción adecuada en forma simultánea. En estos casos no existe una alteración en la digestión ni en la absorción, sino en la utilización de los aminoácidos liberados a distinta velocidad (30).

1.5 Evaluación nutricional de proteínas.

La calidad de una proteína se refiere a la eficiencia con que la proteína es utilizada para la síntesis de las proteínas y el mantenimiento del organismo. Diversos métodos de evaluación de la calidad protéica han sido propuestos.

La función primordial de una proteína alimentaria es la de aportar una mezcla de aminoácidos en las proporciones requeridas para la síntesis de proteínas tisulares y para el mantenimiento del organismo.

Cualquier método que mida el valor de una proteína alimentaria debe, directa o indirectamente, evaluar estas funciones. Para poder ser usados en forma generalizada, los métodos deben ser simples, rápidos y económicos (25).

Los métodos de evaluación de proteínas se clasifican en tres grupos:Métodos biológicos (in vivo), métodos químicos (in vitro) y métodos químicos.

1.5.1 Métodos biológicos.

La utilización metabólica de las proteínas en el ser humano puede ser relacionada con la utilización metabólica de las proteínas en otras especies, particularmente en la rata (30). Se ha reportado que el patrón de requerimientos de aminoácidos indispensables del hombre es semejante al de la rata (cuadro 2).

Estas semejanzas han llevado a diversos investigadores a proponer técnicas de evaluación nutricional en que la rata se utiliza como modelo experimental. Los resultados obtenidos con estas técnicas se pueden generalizar al hombre, siempre y cuando se consideren las diferencias existentes entre ambas especies, algunas de estas diferencias son: tamaño, peso metabólico, diferencias en la fisiologia digestiva, hormonales,etc. (23,30).

Otros animales tales como el cerdo o el becerro serían modelos mas cercanos al hombre, pero trabajar con ellos presenta dificultades técnicas y es muy costoso, por lo que la rata sigue empleándose como modelo (23, 25).

Los métodos biológicos mas usuales para la evaluación nutricional de una proteína son: valor biológico (VB), coeficiente de relación de eficiencia protéica (PER), coeficiente de relación neta de proteína (NPR), coeficiente de utilización neta de proteína (NPU) y el método de pendiente o de dosis múltiples de proteína.

1.5.1.1 Valor biológico (VB).

Thomas introdujo el concepto de valor biológico y el método para determinarlo en humanos en 1909 (45). Mitchell adaptó el método de valor biológico para ser utilizado en ratas en crecimiento (36).

La fórmula para determinar el valor biológico es:

$$VB = \frac{\text{Nitrógeno retenido}}{\text{Nitrógeno absorbido}} \times 100$$

Cuadro 2. Requerimientos para crecimiento y mantenimiento de la rata y el hombre.

	Rata			
Aminoácidos	Crecimiento	Mantenimiento	Crecimiento	Mantenimiento
Histidina	1.9	2.2	1.6	-
Isoleucina	5.0	4.7	4.1	2.8
Leucina	6.3	4.3	9.4	3.8
Lisina	8.2	3.4	6.1	3.4
Fenilañanina+ Tirosina	6.6	5.3	7.4	3.8
Metionina + Cistina	4.6	4.4	3.4	3.7
Treonina	4.6	4.6	5.2	2.0
Valina	5.1	4.7	5.5	2.8
Triptofano	1.0	1.0	1.0	1.0

Fuente: FAO/WHO, 1973 (18).

El nitrógeno retenido y el absorbido se calculan como se indica a continuación:

$$VB = \frac{\text{N ingerido - (N fecal - N fecal metabólico)- (N urinario - N urinario endógeno)}}{\text{N ingerido - (N fecal - N fecal metabólico)}}$$

N = Nitrógeno

Uno de los mayores problemas asociados con el uso de este método son el cuidado extremo que se necesita para lograr una completa recolecta de orina y heces y la determinación de su contenido de nitrógeno; asi como la determinación del nitrógeno fecal metabólico y el nitrógeno urinario endógeno.El nivel de proteína afecta los resultados obtenidos (34).

1.5.1.2 Coeficiente de relación de eficiencia protéica (PER).

Fue introducido por Osborne y sus colaboradores en 1919. Este método expresa la ganancia de peso en gramos por cada gramo de proteína consumida (39).

La fórmula que se utiliza es la siguiente:

$$PER = \frac{\text{Proteína consumida (g)}}{\text{Ganancia de peso (g)}}$$

Se utilizan ratas machos de una misma cepa genética, recién destetados, de entre 20 y 23 días de nacidos. Se determina la ingestión de proteína (alimento x contenido de proteína del alimento), y la ganancia de peso de cada animal durante un período experimental de cuatro semanas, se determina el PER de acuerdo a la fórmula mencionada anteriormente.

Una desventaja del método es que no toma en cuenta la proteína necesaria para el mantenimiento, y es bien conocido que las necesidades de mantenimiento y las de crecimiento en términos de aminoácidos son diferentes.

A pesar de sus limitaciones el PER continúa siendo el método mas utilizado para determinar el valor nutritivo de una proteína y es el método oficial en Estados Unidos y Canada (25,34).

1.5.1.3 Coeficiente de relación neta de proteína (NPR).

Este método fue desarrollado por Bender y Doell en 1957, utiliza dos grupos de ratas, el primero se alimenta con una dieta cuya proteína es la proteína que se desea evaluar y un segundo grupo que recibe una dieta sin proteína durante un período de 10 días. Se considera que la pérdida de peso del grupo de ratas que reciben la dieta sin proteína representa la proteína necesaria para el mantenimiento. La fórmula que se utiliza es la siguiente:

$$NPR = \frac{\text{Ganancia de peso del grupo experimental (g)} + \text{pérdida de peso del grupo alimentado sin proteína (g)}}{\text{Proteína consumida (g)}}$$

El método presenta la ventaja de ser de corta duración (10 a 14 días). La desventaja de este método consite en que frecuentemente sobreestima el valor de una proteína de baja calidad. (6, 25).

1.5.1.4 Coeficiente de utilización neta de proteína (NPU).

Método desarrollado por Bender y Miller en 1953. En este método se utilizan dos grupos de ratas, el primero es alimentado con una dieta cuya proteína es la proteína que se desea evaluar, el segundo grupo recibe una dieta libre de proteína.

La finalidad del método consiste en medir el nitrógeno depositado en el cuerpo de las ratas que han sido alimentadas con la proteína que se desea evaluar. Se debe hacer una corrección por el nitrógeno endógeno, para lo cual se utiliza el grupo de ratas que reciben la dieta libre de proteína. El NPU se calcula en base a la siguiente fórmula:

$$NPU = \frac{\text{N corporal del grupo experimental} - \text{N corporal del grupo sin proteína}}{\text{N consumido por el grupo experimental}}$$

N = Nitrógeno

NPU = Valor Biológico x Digestibilidad

El experimento tiene una duración de entre 7 y 10 días y las mediciones son menos laboriosas que las que se efectúan para la determinación del valor biológico (7, 25).

1.5.1.5 Método de pendiente o de dosis múltiples de proteína.

Este método fue desarrollado por Allison en 1959. Consiste en la utilización de varios niveles de proteína. El período experimental es de cuatro semanas. Al final del mismo se grafica la ganancia de peso de las ratas contra el nitrógeno consumido por ellas. Sólo se consideran los valores que caen en la porción recta de la curva para calcular el valor de la pendiente. Este valor es el que se toma para determinar la calidad de la proteína estudiada.

Este método presenta importantes ventajas: pueden evaluarse proteínas a concentraciones mayores o menores de 10%, los resultados no son afectados por la cantidad de alimento ingerido y en niveles arriba de 20% de proteína podemos detectar alguna indicación de efectos tóxicos de la dieta (2,25).

1.5.2 Métodos químicos.

La capacidad de una proteína para promover el crecimiento del organismo y mantener sus funciones vitales depende del contenido y de la proporción en que se encuentran los aminoácidos de la proteína, en particular del contenido del primer aminoácido limitante. Esto ha fundamentado el desarrollo de diversos métodos de evaluación de la calidad nutricional de las proteínas basados en su contenido de aminoácidos (36).

1.5.2.1 Valor químico.

Block y Mitchell en 1946 propusieron un método en que la composición en aminoácidos de la proteína estudiada se compara con la composición de una proteína patrón.

Se adjudica un valor (Índice químico) a la proteína estudiada que corresponde al porciento del aminoácido indispensable que se encuentra en menor concentración al compararlo con la concentración del aminoácido correspondiente en la proteína patrón. El contenido de aminoácidos indispensables de la proteína patrón es similar a los requerimientos de aminoácidos del hombre.

Este método propone que el valor nutritivo de una proteína depende del aminoácido indispensable que se encuentra en menor proporción, sin tomar en cuenta la biodisponibilidad de los aminoácidos. No obstante, se sabe que, el índice químico de algunas proteínas no corresponde al valor nutritivo esperado, la digestibilidad de la proteína es un posible factor para explicar estas discrepancias (9,38).

1.5.2.2 Disponibilidad de aminoácidos.

Carpenter y sus colaboradores fueron los primeros en relacionar la biodisponibilidad de la lisina con la calidad de las proteínas. Encontraron que no toda la lisina es biodisponible para el animal (15).

Debido a la importancia de la lisina en la dieta se han realizado diversos intentos para medir su biodisponibilidad en los alimentos. Se han utilizando estudios de evaluación biológica, métodos in vitro y análisis químicos.

Los métodos químicos para determinar lisina reactiva en forma rápida presentan ventajas importantes. Se han desarrollado métodos que dependen de la facilidad con que el grupo ε-amino de la lisina reacciona con el agente elegido. La intensidad de la reacción esta directamente relacionada a la biodisponibilidad de la lisina (23,43).

El término lisina disponible deberá aplicarse a la lisina que el animal utiliza metabólicamente para sus funciones. El término lisina reactiva debe ser utilizado preferentemente al término lisina disponible cuando se analiza químicamente, puesto que en las proteínas las fracciones que son parcialmente indigeribles pueden incluir algo de lisina reactiva que nutricionalmente no es disponible (43). Los métodos químicos mas usuales para la determinación de lisina reactiva son: método de Carpenter, método del ácido trinitrobencensulfónico (TNBS), Método de determinación por diferencia, método del S-etiltrifluoroacetato y el método del colorante enlazado a lisina (DBC) (23).

1.5.3 Métodos varios.

1.5.3.1 Proteínas del hígado y enzimas.

Se ha demostrado que la actividad de ciertas enzimas y el contenido de proteína del hígado tienen relación con la cantidad y la calidad de las proteínas de la dieta. Por razones diversas este método no es aplicable rutinariamente (34).

1.5.3.2 Métodos microbiológicos.

Se ha propuesto (34) el uso de un protozoario: Tetrahymena pyriformis para evaluar la calidad nutricional de una proteína. Este organismo es capaz de digerir proteínas intactas y requiere de los 10 aminoácidos que son indispensables para la rata. Investigaciones mas recientes indican que este método necesita de estudios mas profundos antes de que sea recomendado como un procedimiento rápido y eficaz para la evaluación de la calidad nutricional de una proteina.

1.5.3.3 Contenido de aminoácidos en la sangre.

Longenecker y Hause (1959), propusieron el método del índice de aminoácidos en plasma para evaluar la calidad nutricional de una proteína. Muestras de sangre de perros fueron obtenidas antes, durante y después de que consumieron dietas experimentales.

Calcularon el incremento o decremento promedio de cada aminoácido y lo dividieron por el requerimiento del perro para cada aminoácido, este valor multiplicado por 100 es lo que se conoce como índice de aminoácidos en plasma, (PAA). Muchos otros grupos de investigadores han estudiado este método, pero ninguno ha presentado evidencias convincentes de que existen importantes ventajas con el uso de niveles de aminoácidos en el plasma para determinar la calidad nutricional de una proteína (34).

1.6 Maíz nixtamalizado.

1.6.1 Importancia del maíz desde el punto de vista de su aporte protéico y energético.

La proteína del maíz tiene un contenido bajo de aminoácidos indispensables particularmente lisina y triptofano, por lo que es considerarda una proteína de baja calidad (14). Adicionalmetnte, el contenido de aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina y valina) se encuentra desbalanceado; el contenido de leucina es dos veces mas alto y los contenidos de valina e isoluecina son menores que el patrón de aminoácidos de la FAO (14,20).

Ha sido demostrado (26,27), que ingestiones prolongadas de aminoácidos ramificados, particularmente leucina, provocan una disminución en el crecimiento y en el consumo de alimentos en animales que han sido alimentados con una dieta baja en proteína. Este efecto desaparece cuando se adiciona isoleucina y valina a la dieta (27).

La disminución en el crecimiento y en la ingestión de alimento han sido asociados a una reducción de isoleucina, valina y otros aminoácidos neutros en el cerebro. Esto es debido a un incremento en la velocidad de oxidación de isoleucina y valina, lo que contribuye a una reducción de las reservas de estos aminoácidos en el plasma y los tejidos y a una inhibición en el suministro de isoleucina, valina y otros aminoácidos neutros al cerebro.

A pesar de todo ello, el maíz es la base de la alimentación de millones de personas alrededor del mundo. Debido a su elevado consumo en los países subdesarrollados el maíz no solo es considerado como una fuente de energía, sino que también aporta cantidades importantes de proteína. Por ejemplo; en México se consumen 186Kg de maíz per capita al año, esto representa aproximadamente 31% de la proteína y 45% de la energía total consumida (19).

1.6.2 Antecedentes Históricos.

El maíz fue conocido por los mayas y otros habitantes de Mesoamérica y formó parte de su religión y cultura. Ellos preparaban varios tipos de alimentos de maíz, pero uno que atrajo mucha atención y ha sido tema de varias investigaciones es el que se conoce como tortilla.La tortilla se somete a un proceso que incluye la cocción alcalina del grano. Se ha reportado que en poblaciones cuya dieta consiste principalmente de maíz crudo se desarrolla una enfermedad caracterizada por debilidad muscular, trastornos mentales y dermatitis a la cual se le denominó pelagra y que era debida a una deficiencia de niacina.

Se demostró que esta enfermedad tiene dos causas. La primera es que aunque el organismo humano puede elaborar cierta cantidad de niacina a partir de triptofano, el maíz normal contiene muy poco de este aminoácido (0.5%).La segunda es la evidencia que sugiere que la pelagra puede también ser inducida por una relación desfavorable de isoleucina a leucina, esto es, por una cantidad excesiva de leucina en una dieta a base de maíz. Se observó que el efecto antagónico de la leucina sobre la conversión de triptofano a niacina era disminuído por incremento en la cantidad de isoleucina como resultado del tratamiento alcalino, esto ayudó a minimizar los efectos de la deficiencia de niacina. Esta deficiencia parece no presentarse comunmente en los países de América Latina que consumen maíz procesado por cocción alcalina (5,29).

1.6.3 Cambios ocurridos al maíz durante el proceso de nixtamalización.

En México, las tortillas son preparadas de la siguiente manera: una mezcla 3:1 de una solución de cal al 1.3% (p/v) y granos de maiz secos y enteros son hervidos hasta que se presenta el desprendimiento del pericarpio en los granos.

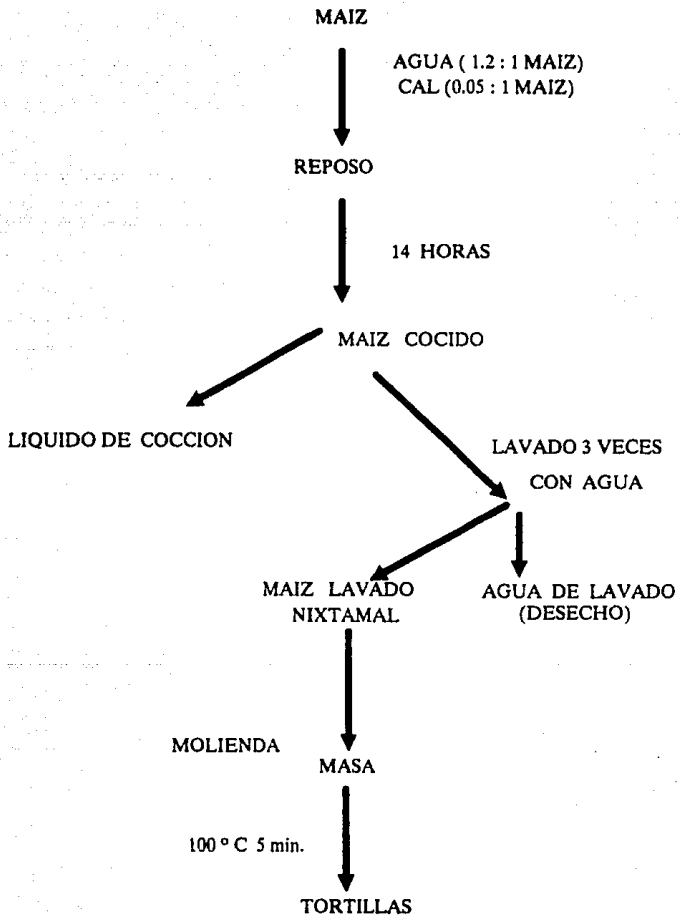

Figura 1: Proceso de nixtamalización del maíz.
Fuente : Bressani y Scrimshaw, 1958 (13)

El maíz cocido se deja reposar por 14 horas a temperatura ambiente, posteriormente, el líquido de cocción es drenado y el maíz es lavado hasta que el pH disminuye a un valor de 8.5. El maíz lavado se muele para obtener la masa. Esta masa puede ser secada para producir una harina que se rehidrata en el momento en que se desee elaborar la tortilla. La tortilla es cocida a una temperatura de 185 °C durante 4 minutos (figura 1), (12).Dos experimentos hechos por Bressani y sus colaboradores muestran los efectos del proceso de cocimiento alcalino sobre el maíz.

En el primer experimento Bressani reporta pérdidas significativas de tiamina, riboflavina, niacina, nitrógeno, grasa, y fibra, como resultado de la preparación de tortillas a partir de maíz crudo (13). La pérdida de estos nutrimentos obedece a dos causas. La primera es de naturaleza física debido a la separación de algunos componentes del grano de maíz durante el lavado y la molienda. La segunda es de naturaleza química ya que el cocimiento con cal destruye diversos nutrimentos.

Mientras que el proceso de cocción y el tratamiento con cal disminuyen el contenido total de nutrimentos en el grano de maíz, Bressani y Scrimshaw demostraron que el cocimiento del maíz en un medio alcalino aumenta su calidad nutricional. Ellos encontraron que la zeína, la proteína de mas baja calidad en el maíz, es mucho menos soluble después de que es calentada en un medio alcalino, mientras que el resto de las fracciones protéicas vieron afectada su solubilidad en un grado mucho menor. Esta disminución en la solubilidad de la zeína provocaría que las enzimas digestivas actuaran preferentemente sobre el resto de las proteínas presentes en el maíz, aumentando la disponibilidad de sus aminoácidos, siendo particularmente importante en el caso de la lisina y el triptofano.

Por otro lado, Bressani reporta una pérdida de un 21% en el contenido total de leucina a causa del proceso, corrigiendo parcialmente el marcado desbalance que existe entre este aminocido y la isoleucina (14).

1.6.4 Diferentes métodos para mejorar la calidad nutricional del maiz.

En el hombre, la deficiencia de la proteína del maíz es manifestada sobre todo en niños de países donde el maíz es el principal alimento (34). Entre estos niños existe una frecuencia alta del síndrome de deficiencia protéica llamado Kwashiorkor.

Diversos investigadores se han dado a la tarea encontrar algún método que resuelva las deficiencias nutricionales que presenta el maíz.

1.6.4.1 Suplementación con aminoácidos.

El cuadro 3 (19), resume varios estudios realizados con animales experimentales y dietas de maíz suplementadas con algunos aminoácidos. Se observa que existe una mejoría de la ganancia de peso y del PER cuando se adiciona solo lisina, pero ningún efecto cuando se adiciona triptofano. Sin embargo, cuando los dos aminoácidos se agregan simultáneamente se presenta una incremento mayor. La adición de otros aminoácidos junto con lisina y triptofano no aumenta el efecto obtenido al agregar lisina y triptofano. Estos resultados sugieren que es posible mejorar la calidad de la proteína del maíz.

1.6.4.2 Mejoras genéticas.

Un grupo de investigadores de la Universidad de Purdue, encabezados por el doctor E. T. Mertz, se dieron a la tarea de encontrar nuevas variedades de maíz rico en proteínas. En 1964 encontraron cambios en el contenido de lisina provocados por la presencia de un gene al cual llamaron opaco-2. Determinaron el contenido de lisina de los endospermos de dos cruzas que contenían el gene opaco-2 de diferentes generaciones. En ambos el contenido de lisina fue más del doble (3.3 a 4.0%) que el encontrado en los endospermos de las especies normales usados como control (1.3% de lisina).

En otr investigación realizada por Mertz en 1974, se encontró que al hacer una comparación directa de la proteína del opaco-2 con la harina de soya, el PER del opaco-2 y el de la harina de soya eran similares. Sin embargo, el nivel de proteína total en maíz con mejoramiento genético es crítico cuando el maíz va a alimentar a seres humanos y animales en la etapa de desarrollo. Puesto que este nivel rara vez excede el 9% de proteína en los maíces mejorados, deben añadirse complementos de harina de soya u otros durante esta etapa (40).

Cuadro 3. Suplementación con aminoácidos del maíz nixtamalizado.

Aminoácidos Adicionados(%)*	Ganancia de Peso Promedio (g)	PER
Ninguno	32	1.21
Lisina(0.31%)	41	1.51
Triptofano(0.10%)	22	1.15
Lisina(0.31%) +Triptofano(0.05%)	100	2.66
Lisina((0.31%) +Triptofano(0.05%) +Treonina(0.20%) +Isoleucina(0.20%) +Metionina(0.10%)	112	2.69

* L - Lisina HCl, DL- Triptofano DL - Isoleucina DL - Treonina, DL- Metionina

Fuente: Elías, Bressani, 1972 (19).

1.6.4.3 Suplementación con proteínas.

Una alternativa para mejorar la calidad nutricional del maíz es mezclándolo con otras proteínas ricas en los aminoácidos en que el maíz es deficiente. Se han realizado estudios (12,19,41,44) encaminados a encontrar los niveles de diversas fuentes de proteína para mejorar la calidad nutricional de la proteína del maíz. Algunos de los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 4. Todas las proteínas que se estudiaron aumentaron la calidad de la proteína del maíz, particularmente aquellas que tienen contenidos altos de los dos aminoácidos limitantes de dicha proteína, (lisina y triptofano) (12).

Sin embargo, algunas de estas proteínas tales como caseína , aislados de soya, albúmina de huevo, etc. , son costosas (cuadro 5). La necesidad de encontrar fuentes de proteína mas económicas y accesibles ha creado, en las últimas décadas, un creciente interés por nuevas fuentes de proteínas no convencionales. Entre las proteínas no convencionales mas estudiadas están la proteína unicelular, las proteínas foliares y los concentrados proteínicos provenientes de vegetales o animales.

1.7 El pescado.

1.7.1 El pescado como fuente de proteína.

Diversos estudios han mostrado que la proteína del pescado tiene un valor nutritivo elevado para el hombre (4,8,22,47). Su contenido de aminoácidos indispensables es muy semejante a los requerimientos del organismo humano (cuadro 6).

1.7.2 Industria pesquera.

Fuentes de la FAO mencionan que por 100 millones de toneladas de pescado capturadas, 40 millones se consumen directamente y menos del 50% de los recursos restantes son dirigidos al consumo humano.

Cuadro 4. Niveles recomendados de varios concentrados de proteína para suplementar el maíz nixtamalizado.

Proteínas	nivel (%)	PER
Ninguno	-	1.00
Caseína	4.0	2.24
Concentrado de prot. de pescado	2.5	2.44
Aislado de proteína de soya	5.0	2.30
Harina de soya	8.0	2.25
Levadura (Tórula)	2.5	1.97

Fuente: Bressani y Marenco, 1963 (12).

Cuadro 5. Evolución de los precios de diversas proteínas en la industria[1] ($ 000/Kg. de proteína).

Ingrediente	Proteína (%)	09/87	08/88	06/90	Variación en el período(%)
Caseinato de sodio	80	9.83	15.00	31.25	+318
Leche descremada en polvo	35.0	8.09	14.34	36.26	+448
CPP[2]	78.0	2.19	3.52	5.38	+146
Harina de soya desgrasada	46.0	3.20	6.25	8.11	+153

1 Precios consultados a diversas industrias en el período estudiado.

2 Concentrado de proteína de pescado.

Los productos subvalorados incluyen especies de bajo valor comercial como la anchoveta y sardina industrial, especies pelágicas, la fauna de acompañamiento del camarón y desechos de los procesos de enlatado, fileteado y congelado de especies como el atún (10).

En México, la captura total en peso desembarcado registrada en el año 1987 fue de 1281 miles de toneladas de las cuales, el 64% se destinó a consumo humano directo (fresco, enlatado, congelado), el 33% al consumo humano indirecto (elaboración de harinas de pescado) y el 3% a uso industrial con fines no comestibles (42).

Considerando que durante el proceso de enlatado solo se utiliza el filete, que representa aproximadamente el 50% del peso total, que los recursos destinados a la elaboración de harinas de pescado pueden ser utilizados en productos de mayor calidad y valor agregado y que exisite un porcentaje considerable del pescado que se congela o se consume fresco que se desperdicia. Podemos afirmar que existe un volumen de aproximadamente 140,000 a 150,000 toneladas de proteína de elevada calidad nutricional que pueden ser transformadas en nuevos productos de un alto valor comercial y nutritivo.

1.7.3 Nuevas tecnologías.

Una manera de valorizar el uso del pescado, sus subproductos y desechos es la aplicación de nuevas tecnologías que permiten extraer la proteína de pescado en condiciones de proceso tales que se mantenga su valor nutritivo. El uso de éstas tecnologías permitiría la elaboración de productos para utilizarse como suplementos en la alimentación animal y humana. Entre estas tecnologías se encuentran las que permiten la obtención de harinas de pescado, concentrados de proteína de pescado, aislados de proteína de pescado e hidrolizados de proteína de pescado

1.7.3.1 Harinas de pescado.

Las harinas de pescado son productos obtenidos a partir de pescado fresco entero que se cuece, se prensa para extraer parte del aceite y del agua, se seca generalmente en tambores rotatorios con calor directo y se muele.

Cuadro 6. Comparación del contenido de aminoácidos indispensables de algunas proteínas y del patrón de requerimientos de la FAO. (mg/g de prot.).

	Patrón de la FAO 1973							
Aminoácidos	Infantes[1]	Niños[2]	Adultos[3]	Trigo	Maíz	HPP[4]	Huevo	leche[5]
Histidina	14	0	0	23	26	29	22	35
Isoleucina	35	37	18	34	38	45	54	59
Leucina	80	56	25	60	106	75	86	107
Lisina	52	75	22	26	27	80	70	78
Metionina+ cistina	29	34	24	36	47	41	57	32
Fenilalanina+ Tirosina	63	34	25	75	87	74	93	109
Treonina	44	44	13	30	40	43	47	52
Triptofano	8.5	4.6	6.5	11	7	12	17	15
Valina	47	41	18	46	50	52	66	64

1 Edad (0 - 11 meses). Basado en el nivel de seguridad de ingestión de 2g de proteína/Kg de peso vivo/día.
2 Edad (10 - 12 años). Basado en el nivel de seguridad de ingestión de 0.8g de proteína/Kg peso vivo/día.
3 basado en el nivel de seguridad de ingestión de 0.55g de proteína/Kg peso vivo/día.
4 Hidrolizado de proteína de pescado comercial, Sopropeche, Canadá.
5 Leche descremada en polvo. Fuente: Allen, R.D. Feedstuffs ingredient analysis table: 1980.

El proceso es sencillo pero la inversión requerida en las plantas es alta, no es costeable a bajas escalas.

Adicionalmente presenta desventajas como un alto contenido de material no deseable, escamas, huesos, vísceras, olor y sabor fuertes, ocasionados por los residuos de lípidos en el producto.Otras desventajas de los productos obtenidos por éste método son los problemas de rancidez debida a la oxidación acelerada de las grasas del pescado si no se usan antioxidantes adecuados, y la falta de solubilidad y capacidad de emulsificación. A pesar de contener entre 50 y 60% de proteína cruda, el proceso de secado directo a que se somete el pescado reduce marcadamente su valor nutritivo. Por estas razones las harinas de pescado son utilizadas casi únicamente como ingrediente en alimentos balanceados para ganado (4,8,22,47).

1.7.3.2 Concentrados de proteína de pescado.

Una mejor forma de canalizar los recursos pesqueros sería la fabricación de concentrados de proteína de pescado. El grupo de consejeros en proteína de las Naciones Unidas define un concentrado de proteína de pescado como sigue:

Un concentrado de proteína de pescado es un producto estable para consumo humano, preparado a partir de pescado entero, de otros animales acuáticos o partes de ellos. La concentración de proteína es incrementada al remover el agua y el aceite. El producto se deshidrata y su apariencia es la de un polvo con un olor y sabor que dependen del proceso utilizado. Los productos así obtenidos tienen un elevado contenido protéico, generalmente entre 75 y 85%, y un bajo contenido de lípidos, usualmente menor del 1%, tienen poco olor y sabor, pero carecen de propiedades funcionales como solubilidad en agua y capacidad de emulsificación.

El costo del proceso para la obtención de los concentrados de proteína de pescado es elevado y la infraestructura necesaria requiere de inversiones elevadas Una de las etapas del proceso que explican su elevado costo es la recuperación de los solventes empleados en la eliminación de la fracción lipídica del pescado Por estas razones el uso de los concentrados de proteína de pescado no se ha generalizado y solo se emplean como enriquecedores protéicos para alimentos en los que la solubilidad en agua y otras propiedades funcionales no son necesarias (8,22,47).

1.7.3.3 Aislados de proteína de pescado.

Productos similares en su composición química a los concentrados de proteína de pescado son los aislados de proteína de pescado. En estos productos la proteína se separa por precipitación en su punto isoeléctrico, y el aceite es eliminado por extracción empleando solventes orgánicos como el hexano o el isopropanol. La proteína así obtenida es prácticamente incolora y con un olor muy suave. Al igual que los concentrados, los aislados de proteína de pescado son poco solubles en agua. Los procesos requeridos para la elaboración tanto de concentrados como de aislados requieren inversiones muy costosas en infraestructura; la extracción del aceite con solventes y la recuperación de éstos por destilación es una de las partes mas caras del proceso. Ha sido reportado que los residuos de algunos solventes utilizados en los procesos de extracción como el dicloroetano son tóxicos para diversas especies animales, como los becerros (4,8,22,33).

1.7.3.4 Hidrolizados de proteína de pescado.

Hemos mostrado como la carencia de propiedades funcionales en las harinas, los concentrados y los aislados de proteína de pescado, es uno de los factores que limitan su uso en diversas aplicaciones en la industria de alimentos. Una alternativa prometedora para obtener concentrados de proteína de pescado con propiedades funcionales, particularmente solubilidad y retención de agua, es la modificación enzimática de las proteínas, mediante el uso de enzimas proteolíticas comerciales. Los productos asi obtenidos se denominan hidrolizados de proteína de pescado.

Las primeras preparaciones de pescado hidrolizado fueron elaboradas empleando las enzimas propias del tracto intestinal de pescado. Se obtenían productos con olores y sabores fuertes que tenían una vida de anaquel larga.

Posteriormente, se usaron ácidos minerales tales como el clorhídrico o el sulfúrico con los que se acidificaba el pescado para obtener productos como el ensilado, en donde, debido a la acidez del producto, el período de conservación es prolongado.

Estos primeros procesos tenían como objetivo principal la conservación del pescado pero los productos obtenidos no son productos con un contenido elevado de proteínas y su manejo es difícil.

Los hidrolizados de proteína de pescado son productos con alto contenido protéico (80 - 90%), solubles en agua, y con una elevada capacidad de emulsificación (36 - 38.6 ml de aceite/100mg de HPP). Son obtenidos mediente procesos de hidrólisis enzimática bajo condiciones controladas de pH, temperatura, tiempo, concentración de enzima y sustrato. La fracción insoluble se separa por filtración y la proteína soluble presente en el sobrenadante después de separar la fracción lipídica por centrifugación o decantación, se recupera secando por atomización (figura 2). Diversos estudios indican que el valor nutritivo y la digestibilidad de este producto son elevadas. Su empleo en substitutos de leche para animales lactantes ha dado mejores resultados que los concentrados de proteína de pescado y que los productos elaborados con soya (4,17,18,31,33).

El incremento en la producción de proteasas comerciales en los últimos 25 años, ha permitido el desarrollo de procesos industriales basados en el uso de proteasas bacterianas obtenidas por vía fermentativa para la producción de hidrolizados de proteína de pescado. El costo relativamente bajo de las enzimas proteolíticas y la ausencia de etapas de extracción de lípidos con solventes en el proceso abaratan el costo de producción de los hidrolizados de proteína de pescado.

1.7.4 Usos de los hidrolizados de proteína de pescado

1.7.4.1Alimentación animal.

Diversos estudios muestran que los hidrolizados de proteína de pescado pueden ser utilizados como fuentes alternativas de proteína en dietas para animales lactantes. Actualmente, los sustitutos de leche para animales lactantes son formulados a partir de leche descremada deshidratada y grasas animales y/o vegetales emulsificadas.
El elevado costo de las proteínas de la leche hace necesario desde el punto de vista económico su reemplazo por fuentes alternas de proteínas, como las del pescado, en la formulación de sustitutos de leche para becerros en crecimiento. La composición en aminoácidos de los hidrolizados de proteína de pescado es similar al de la caseína de la leche.

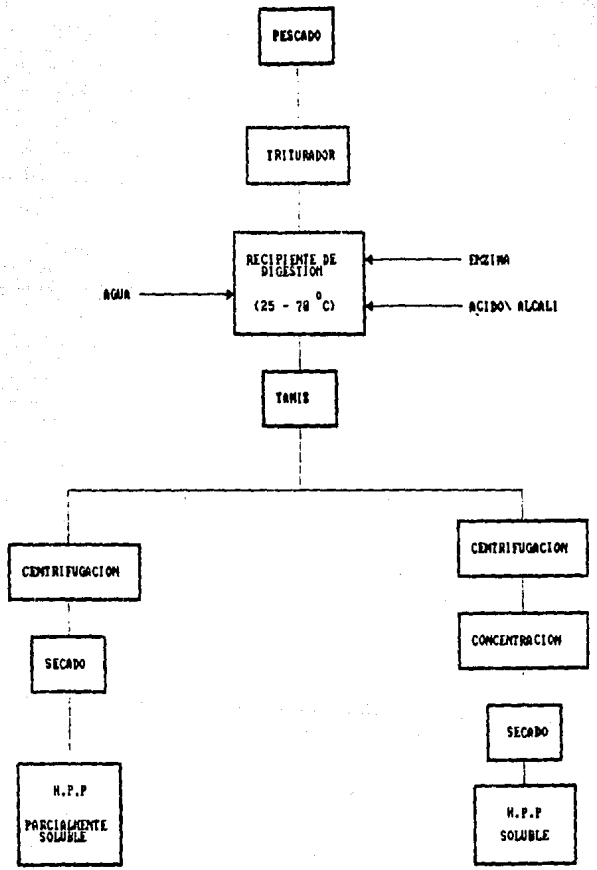

Figura 2. Diagrama general del proceso de obtención de hidrolizados de proteína de pescado.

Puesto que estos productos tienen un bajo contenido de cenizas, un elevado contenido de proteína y son fácilmente dispersables en agua, es posible su uso en la elaboración de sustitutos de leche (18).

1.7.4.2 Alimentación humana.

Esta área no ha sido explotada comercialmente, ya que no han sido desarrolladas las modificaciones al proceso que eliminen completamente el olor, sabor y color de los hidrolizados de proteína de pescado. La presencia de péptidos amargos debe ser resuelta en productos con alto grado de hidrólisis. La solución total de los problemas mencionados permitirá la utilización de los hidrolizados de proteína de pescado como ingrediente en bebidas carbonatadas para la alimentación de niños en crecimiento, como sustituto en la alimentación de adultos que digieren con dificultad las proteínas convencionales (ej. ancianos). Además, es posible sugerir que la suplementación de proteína de cereales con proteína de pescado permite incrementar el valor nutritivo de dietas a base de proteínas vegetales. Por éstas razones, los hidrolizados de proteína de pescado tienen una aplicación potencial importante en la fortificación de productos como sopas, tortillas, panes, pastas, bocadillos y galletas entre otros (17,24,48).

1.8 Justificación.

El maíz es el principal alimento de los grupos de bajos ingresos en México. Constituye la principal fuente de carbohidratos y proteínas de su dieta diaria. Sin embargo, la proteína del maíz tiene calidad nutricional reducida debido a contenidos deficientes de lisina y triptofano, aminoácidos que el hombre no puede sintetizar. Adicionalmente se ha reportado un desequilibrio en las proporciones de aminoácidos ramificados debido a un exceso de leucina en la proteína de maíz con respecto a los otros dos aminoácidos ramificados isoleucina y valina, lo cual ha sido asociado a reducciones en la ingestión y ganancias de peso, en ratas (26,27).

Las proteínas de pescado tienen un contenido de aminoácidos indispensables adecuado a los requerimientos del organismo humano. La concentración de lisina es particularmente alta. La hidrólisis enzimática de las proteínas de pescado permite obtener productos concentrados solubles en agua y con bajo contenido de lípidos a partir de subproductos marinos. La hidrólisis enzimática conserva el valor nutritivo de la proteína por realizarse en condiciones de temperatura y pH suaves. Consideramos que la suplementación de la proteína de maíz nixtamalizado con otra proteína rica en lisina y triptofano y con un balance adecuado de aminoácidos ramificados es una alternativa prometedora para incrementar la calidad de la proteína de la tortilla. Por las razones anteriormente expuestas se propone el uso de un hidrolizado de proteína de pescado para suplementar dietas a base de maíz.

2. HIPOTESIS.

Es posible mejorar la calidad nutricional de la proteína de maíz nixtamalizado reemplazándola parcialmente con un concentrado de proteína de pescado hidrolizado.

3. OBJETIVOS.

3.1. General.

Determinar la calidad nutricional de mezclas de nixtamal y un concentrado de proteína de pescado hidrolizado.

3.2 Específicos.

Determinar el contenido de lisina reactiva de las dietas experimentales.

Determinar la ganancia de peso (GP), el coeficiente de eficiencia protéica (PER), el coeficiente de relación neta de proteína (NPR), y la digestibilidad aparente de nitrógeno (DAN), empleando ratas alimentadas con dietas cuya fuente de proteína proviene de mezclas hechas con harina de maíz nixtamalizado y con un hidrolizado de proteína de pescado.

Proponer un modelo de predicción del comportamiento de la ganancia de peso, PER, NPR y DAN en función del aumento en el nivel de reemplazo de la proteína de maíz por la proteína de pescado.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Materiales

La materia prima que se utilizó como fuente de proteína para la preparación de las dietas experimentales fue:

Harina de maíz nixtamalizado elaborada por la Compañía Nacional de Subsistencias Populares, México. Su composición química es: humedad 10.8%, proteína cruda 7.8%, extracto etéreo 4.5%, carbohidratos asimilables 77.4%, calcio 140mg/100g.

Hidrolizado de proteína de pescado elaborado en la planta piloto del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Su composición química es: Humedad 4.4%, Proteína cruda 82.2%, extracto etéreo 6.2%, carbohidratos asimilables 3.5%, cenizas 3.4%.

4.2 Dietas.

Se elaboraron 7 dietas (cuadro 7) con un contenido de proteína de 8% (N x 6.25), debido a que el harina de maíz nixtamalizado tuvo un contenido de proteína cruda de 7.8%. El contenido de energía bruta se ajustó a 4000 Kcal/kg. Para identificar cada una de las dietas se tomó el porcentaje de proteína de pescado y de proteína de harina de maíz nixtamalizado presentes en cada una de ellas, (%proteína pescado : %proteína de nixtamal). Se utilizaron como ingredientes, además de las fuentes de proteína, almidón de maíz (Maizena, México), aceite de maíz (Mazola, productos de maíz, México), celulosa (Non-nutritive celullose Teklad, U.S.A.), premezcla de minerales (teklad, cat. No. 170760, U.S.A.), premezcla de vitaminas (Teklad, cat. No. 40060, U.S.A.). Se formuló igualmente una dieta control de caseína (High Protein Test diets Teklad, U.S.A.) y una dieta sin proteína para el cálculo del NPR.

Cuadro 7. Composición de las dietas experimentales.

	Relación HPP: NIXTAMAL (%)[1]							
	0:100	5:95	10:90	15:85	20:80	50:50	100:0	Caseína
Ingredientes								
Nixtamal[2]	95.0	94.5	93.0	84.0	78.0	52.0	-	-
HPP[3]	-	0.5	1.0	1.5	2.0	5.0	10.0	-
Caseína[4]	-	-	-	-	-	-	-	10.0
Aceite de maíz[5]	-	-	1.0	4.0	5.0	5.0	6.0	6.0
Almidón de maíz[6]	-	-	-	3.0	8.0	30.0	76.0	76.0
Mezcla de min.[7]	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Mezcla de vit.[8]	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Celulosa[9]	-	-	-	2.5	2.0	3.0	3.0	3.0
Análisis Químico								
Proteína(Nx6.25)	7.8	8.3	8.1	8.3	8.3	8.6	8.5	8.1
Humedad (%)	7.3	9.8	9.4	9.8	10.0	10.1	9.3	10.4
Energía (Kcal/g)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

1 Las proporciones de Hidrolizado de proteína de pescado: nixtamal estan expresadas en porcentaje de proteína.
2 Nixtamal, Compañía Nacional de Subsistencias Populares, México.
3 HPP.Hidrolizado de proteína de pescado elaborado en la planta piloto del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.
4 Caseína. Teklad High Protein. 16000. Madison Wi. U.S.A.
5 Aceite de maíz comercial, Mazola.
6 Almidón de maíz comercial, Maizena.
7 Mezcla de minerales. Teklad test diets. Madison Wi. U.S.A.
8 Mezcla de vitaminas. teklad No. 40060. Madison Wi. U.S.A.
9 Celulosa. Non nutritive cellulose,Teklad; Madison Wi., U.S.A.

4.3 Análisis químicos.

El análisis proximal del harina de maíz nixtamalizado y del hidrolizado de proteína de pescado se efectuaron utilizando los métodos descritos por el A O A.C (3)

El contenido de nitrógeno total en las dietas experimentales se determinó utilizando el método de Weatherbun (46), este método se describe más adelante. El valor de nitrógeno obtenido se transformó a su equivalente en proteina multiplicando por el factor 6.25.

El contenido de humedad de las dietas experimentales se determinó en una estufa de convección forzada (Felisa mod. FE 19) a 100 °C hasta alcanzar un peso constante.

El contenido de aminoácidos indispensables del nixtamal fueron obtenidos de McPherson C.M., (35) .

Una muestra del hidrolizado de proteína de pescado se dividió en dos submuestras. La primera se hidrolizó con HCL 6N a 110 °C y a 35 militors durante 20 h y la segunda fue hidrolizada con ácido mercaptoetanol sulfónico 4 N durante 22 h a 110 °C y a 35 militors para determinar el contenido de triptofano. Se utilizó como analizador un Beckman HPLC System Gold.

Estos valores se utilizaron para calcular el contenido de aminoácidos indispensables presentes en cada una de las dietas experimentales.

4.4 Análisis biológicos.

4.4.1 Animales.

54 ratas Wistar, machos, de entre 21 y 24 días de edad, y con pesos de 50 ±10g, provenientes del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, fueron asignados aleatoriamente a las dietas estudiadas. Los animales fueron alojados en cajas metabólicas individuales, dotadas de una rejilla que permite

la colecta de heces, en una habitación mantenida a una temperatura de 23 ±1 °C y con una humedad relativa de 55 ±5%. Los animales fueron sometidos a períodos alternos de iluminación y obscuridad de 12 horas cada uno. Se ofreció agua y alimento ad libitum.

4.4.2 Parámetros nutricionales.

a) Coeficiente de relación de eficiencia protéica (PER).

El período experimental fue de 4 semanas. Los animales fueron pesados al inicio y al final del período experimental y al inicio de cada semana. Las cantidades de alimento ingerido por cada rata fueron medidas cada dos días.

La ingestión de proteína (alimento consumido x contenido de proteína en la dieta) y la ganancia de peso de cada animal obtenidos al final del experimento se utilizaron para calcular el PER de acuerdo a la siguiente fórmula:

PER = Ganancia de Peso (g) / Proteína consumida (g)

El PER expresa la ganancia de peso del animal en gramos por cada gramo de proteína ingerida.

b) Coeficiente de relación neta de proteína (NPR).

Para la determinación de éste parámetro se formó un grupo de ratas que recibió una dieta libre de proteína durante un período de 10 días, la pérdida promedio de peso de este grupo se adicionó a las ganancias de peso de las ratas alimentadas con las dietas experimentales y el resultado se dividió entre la cantidad de proteína ingerida:

$$NPR = \frac{\text{Ganancia de peso del grupo experimental (g)} + \text{pérdida de peso en el grupo sin proteína (g)}}{\text{Proteína consumida (g)}}$$

El NPR toma en cuenta la parte de la proteína que es utilizada por el animal para su mantenimiento.

c) Digestibilidad aparente del nitrógeno (DAN).

Durante la tercera semana del experimento se recolectaron las heces de los animales, se pesaron y se conservaron refrigeradas a -4 °C en bolsas individuales. Al finalizar el período de digestibilidad se secaron las muestras individuales de heces en estufa a 65 °C hasta alcanzar un peso constante y se molieron en un molino (Moulinex). Para determinar el nitrógeno total en las heces se utilizó el método reportado por Weatherburn (46). Una muestra de aproximadamente 0.2 g fue digerida por el método de microkjeldhal (3), el sulfato de amonio formado después de la digestión se hizo reaccionar con fenol e hipoclorito sódico (reacción de Berthelot) en medio alcalino para formar el indofenol azul utilizando como catalizador nitroprusiato sódico.

La técnica consistió en colocar 1 ml. de muestra digerida y diluida 1:2500, y agregar 5 ml. de una solución de fenol nitroprusiato y 5 ml. de una solución de hipoclorito sódico (apéndice). Se dejó reaccionar 30 min. a temperatura ambiente y la absorbancia del color formado se leyó a 625 nm en un espectrofotómetro (Baush & Lomb mod. 20) los resultados se interpolaron en una curva éstandar de sulfato de amonio con una concentración de entre 1 y 10 mcg de amonio por ml.

El nitrógeno contenido en las heces se multiplica por 6.25 para saber el % de proteína presente en ellas. Por último calculamos la digestibilidad aparente del nitrógeno utilizando la siguiente fórmula:

$$DAN = \frac{\text{Proteína ingerida (g) - Proteína excretada en heces (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}} \times 100$$

La digestibilidad aparente de un nutrimento expresa la proporción del nutrimento que es aparentemente digerida por el animal. Se determina estableciendo un balance entre la cantidad del nutrimento ingerido por el animal y la cantidad excretada en las heces de ese mismo nutrimento.

4.5 Determinación de lisina reactiva en las dietas experimentales.

Para la determinación de lisina reactiva en las dietas experimentales se utilizó la modificación de Hurrel y Carpenter al método de colorante enlazado a lisina (28). El método se fundamenta en la capacidad que tiene la lisina de reaccionar con un colorante orgánico (AO12 Crocein Orange G) cuando se encuentra libre el grupo ε-amino. La proporción de lisina total que reacciona con el colorante se denomina lisina reactiva.

El método consistió en pesar una cantidad de muestra de entre 0.2 g y 3 g en dos matraces denominados A y B. A cada matraz se le agregó 1 ml de 2-propanol y se agitó 5 min para humedecer la muestra. Se agregaron 4 ml de acetato de sodio trihidratado al 5% (p/v) a cada uno, más 0.3 ml de anhídrido propiónico al matraz B. Se agitó vigorosamente durante 15 min (Agitador New Brunswick RW 650, USA). Se añadieron 40 ml de solución colorida 3.89 mmol/l en un amortiguador de fosfatos, cido oxálico y acético. Se agitó durante 60 min. hasta que se alcanzó el equilibrio. La solución se centrifugó a 5000 rpm durante 10 min. Se determinó la concentración del exceso de colorante por espectrofotometría a 475 nm y se interpoló la absorbancia a una curva estándar de colorante con una concentración de 1.0 a 1.9 mmol/l. Los mmol de colorante ligado se convirtieron a mmol de colorante ligado por 16 g de nitrógeno y se multiplicaron por el peso molecular de la lisina. Finalmente el resultado del frasco B se restó del frasco A.

4.6 Análisis estadístico.

Los resultados del experimento de evaluación nutricional fueron analizados de acuerdo a un análisis de varianza completamente aleatorio. El análisis de varianza es, esencialmente, un procedimiento aritmético que descompone una suma total de cuadrados en componentes asociados con fuentes de variación conocida. El diseño completamente aleatorio es útil cuando las unidades experimentales son esencialmente homogéneas, es decir, cuando la variación entre ellas es pequeña y agruparlas es bloques sería poco más que un proceso aleatorio. Este es el caso en muchos tipos de experimentos de laboratorio en los que una cantidad de material está completamente mezclada y luego se divide en porciones pequeñas para formar las unidades experimentales a las cuales se asignan los tratamientos en forma aleatoria o en experimentos con animales y plantas con condiciones ambientales muy parecidas, como se presenta en nuestro experimento.

La suma de cuadrados asociada al efecto del tratamiento (dietas) fue disociada en sus componentes lineal y cuadrático (37).

Al graficar los resultados de ganancia de peso, PER y NPR obtenidos contra el nivel de proteína de pescado hidrolizado en la dieta, observamos que el valor de las variables estudiadas aumenta rápidamente para los primeros niveles de reemplazo de la proteína de maíz por la proteína de pescado hidrolizado. Sin embargo a niveles de reemplazo mayores el incremento en la ganancia de peso, PER y NPR fue cada vez menor. Con base en estos resultados se propuso que el modelo: $Y = Y_{máx.} - A1\, e^{-x/\tau}$

Donde:

Y = PER, NPR ó ganancia de peso.

x = Porcentaje de proteína de pescado hidrolizado en la dieta.

$Y_{máx}$ = Respuesta máxima.

A1 = Incremento total de y producido por x.

$1/\tau$ = Intervalo de x necesario para alcanzar la respuesta máxima si la velocidad es constante e igual a la velocidad inicial.

Puede representar el comportamiento de las variables estudiadas. (figura 3). Para entender este modelo es necesario evaluar la ecuación propuesta a valores muy pequeños y valores muy grandes de x.

Por ejemplo, Si el porcentaje de proteína de pescado hidrolizado presente en la dieta tendiera hacia infinito, los valores de ganancia de peso, PER y NPR obtenidos se acercarían hacia un valor máximo (asíntota). Por otro lado, a niveles de reemplazo de proteína de maíz por proteína de pescado hidrolizado muy cercanos a cero el valor de la ganancia de peso, PER y NPR estarían dados por el valor de la respuesta mxima menos un valor A1 , el cual irádisminuyendo conforme aumente el porcentaje de proteína de pescado hidrolizado.

Finalmente, para entender el significado de $1/\tau$ es necesario derivar nuestra

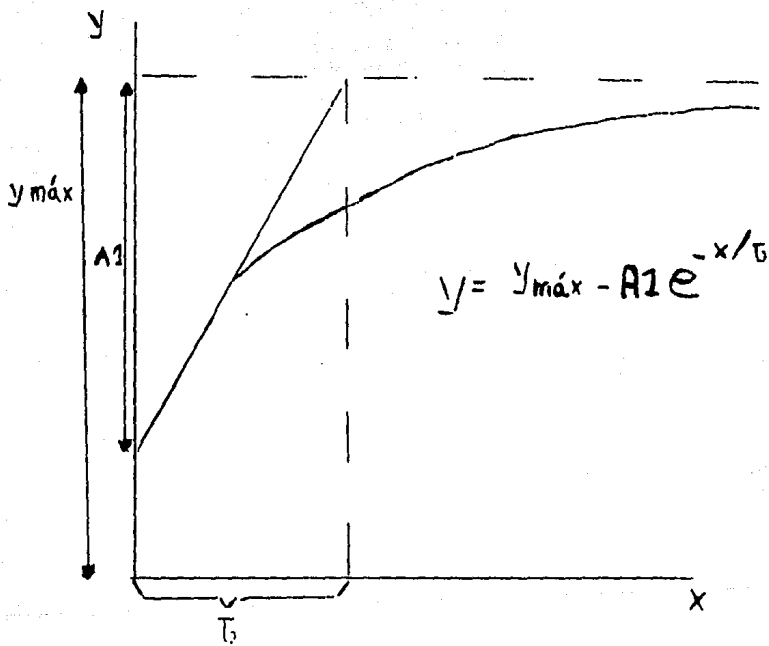

Figura 3. Representación gráfica del modelo exponencial.

ecuación original :

$$dy/dx = -A1(-1/\tau)\ e^{-x/\tau}$$

$$dy/dx = A1/\quad e^{-x/\tau}$$

Si evaluamos la derivada para x = 0 el cambio de y con respecto a x es igual a $A1/\tau$. Esto quiere decir que si el aumento de la ganancia de peso, el PER y el NPR fuera constante τ representaría el porcentaje de proteína de pescado hidrolizado necesario para alcanzar la respuesta maxima.

A continuación se estima un valor de $1/\tau$ el cual llamaremos A2. Para hacer el ajuste se asume que: Yi = C0 + CiXi , donde:

Yi = ganancia de peso, PER ó NPR.

C0 = respuesta máxima

Ci = A1

$$Xi = e^{-x/\tau}$$

Para hacer la estimación se toman 3 valores de Xi. Un valor inicial A2Xi; para obtener los otros dos valores a A2 se le suma y se le resta un valor h:

$$X1 = e^{-xA2}$$

$$X2 = e^{-x(A2+h)}$$

$$X3 = e^{-x(A2-h)}$$

La manera de evaluarlo es considerar la suma de los errores al cuadrado para

X0, X1 y X2. Si la suma de errores al cuadrado para éstos tres valores da una gráfica como las que se observan en las figuras a y b se tienen que proponer diferentes valores de A2 hasta encontrar la mínima suma de errores al cuadrado (figura c).

Cuando esto sucede el valor de A2 puede considerarse como la estimación final y construir el modelo exponencial.

a) b) c)

En el intervalo de 0 - 30% de suplementación un modelo lineal de la forma y = mx + b fue propuesto y sus coeficientes estimados a partir de los datos experimentales de este trabajo y de un trabajo previo realizado en el instituto de Investigaciones Biomédicas en el cual se establecieron las condiciones óptimas para la obtención de un hidrolizado de proteína de pescado. Posteriormente, el hidrolizado se empleó para complementar dietas de maíz nixtamalizado, tal como se hizo en nuestro experimento, pero empleando niveles de reemplazo de 0, 10, 20 y 30% (1).

La calidad del ajuste de los datos experimentales a los modelos propuestos se evaluó utilizando el coeficiente de correlación (r) que es una medida del grado en que dos variables varían conjuntamente o una medida de la intensidad de asociación. También determinamos el coeficiente de determinación (R^2), que es el cuadrado del coeficiente de correlación y expresa el porcentaje de la variabilidad total del experimento que es explicada por el modelo (37).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del experimento de evaluación nutricional de dietas a base de harina de maíz nixtamalizado suplamentadas con un hidrolizado de proteína de pescado elaborado en el Instituto de Investigaciones Biomédicas se encuentran en el cuadro 8.

Las ratas que se alimentaron con la dieta con 0% de suplementación (dieta 0:100), tuvieron bajas ganancias de peso y bajos valores de PER Y NPR. Igualmente, la digestibilidad del nitrógeno en esta dieta fue baja. Diversos estudios (14,19,26,27), atribuyen este comportamiento del maíz a sus bajos contenidos de lisina y triptofano, y a un marcado desbalance entre los aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina y valina), debido a un alto contenido de leucina (cuadro 9); este desbalance ha sido asociado a depresiones en el crecimiento y en la ingestión de alimento en ratas probablemente porque existe una competencia entre ellos por los sitios de absorción en el intestino.

Por otro lado, los valores más altos de la ganancia de peso, el PER y el NPR fueron obtenidos cuando toda la fuente de proteína provino del hidrolizado de proteína de pescado, (dieta 100:0), el valor de la digestibilidad del nitrógeno también fue el más alto; esto sugiere que la proteína de pescado tiene un valor nutritivo más alto que la proteína de maíz, que el proceso de hidrólisis enzimática no altera la calidad nutricional de la proteína de pescado y que la disponibilidad de los nutrimentos aumenta debido a una predigestión de la proteína durante la hidrólisis. En esta dieta (100:0), el contenido de lisina fue 2.8 veces mas alto que en la dieta de maíz (0:100) y 50% mayor que el patrón de la FAO. Adicionalmente, el hidrolizado

Cuadro 8. Ganancias de peso (GP), coeficiente de eficiencia protéica, (PER), coeficiente de utilización neta de proteína (NPR), digestibilidad aparente de nitrógeno (DAN) de ratas alimentadas con las dietas experimentales.

DIETA	GP	PER	PER AJUSTADO	NPR	DAN (%)
	[1]	[2]			
0:100	19.0 (4.4)	1.51 (0.26)	1.08	2.28 (0.22)	76.4 (8.5)
5:95	30.1 (3.6)	1.74 (0.23)	1.24	2.26 (0.33)	81.5 (3.2)
10:90	41.0 (3.0)	2.16 (0.17)	1.54	2.71 (0.2)	80.1 (3.3)
15:85	35.2 (6.1)	1.95 (0.18)	1.39	2.56 (0.14)	85.7 (1.9)
20:80	46.2 (2.9)	2.41 (0.22)	1.72	2.95 (0.26)	80.2 (4.4)
50:50	42.7 (6.3)	2.38 (0.17)	1.70	2.95 (0.14)	86.5 (2.8)
100:0	49.2 (7.3)	2.48 (0.13)	1.77	3.00 (0.15)	88.9 (4.8)
caseína	74.8 (19.1)	3.53 (0.53)		4.02 (0.48)	94.0 (1.6)
[3] E.E	1.68	0.052		0.056	0.95
EFECTOS					
Dietas	**	**		**	**
TENDENCIAS					
Lineal	*	*		*	*
Cuadrático	**	**		**	n.d.

1 Media de seis repeticiones.
2 desviación estándar entre paréntesis
3 error estándar.

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

n. d. no se determinó

de proteína de pescado cubrió casi en su totalidad el requerimiento de triptofano que marca la FAO y el contenido de leucina fue menos de la mitad del que se encuentra en la harina de maiz nixtamalizado.

Las ecuaciones de regresión que expresan el comportamiento de la ganancia de peso, el PER, el NPR y la digestibilidad del nitrógeno en función del contenido de hidrolizado de proteína de pescado en la dieta se encuentran en el cuadro 10. La calidad del ajuste de los datos experimentales a los modelos propuestos fue considerada adecuada utilizando los coeficientes de determinación (R^2) y de correlación (r) como criterio (37).

El modelo exponencial propuesto para las variables ganancia de peso, PER y NPR, fue del tipo $Y = Y_{máx} - A1\, e^{-x/\tau}$ donde Y es la variable dependiente, en este caso: ganancia de peso, PER y NPR; x es el nivel de incorporación del hidrolizado de proteína de pescado expresado en porcentaje, Y máx es el nivel máximo de la respuesta a la suplementación, es decir, la asíntota; A1 es el verdadero efecto de la suplementación, es decir, la respuesta máxima menos la respuesta al nivel cero de suplementación. Finalmente, $1/\tau$ es el porcentaje de suplementación al que se alcanza la respuesta máxima si la tasa inicial de aumento de la respuesta (GP, PER y NPR) con respecto al incremento en el nivel de suplementación (dy/dx) se considera constante (figuras 4 y 5). En términos biológicos el modelo exponencial asintótico fue seleccionado porque permite explicar el comportamiento de la ganancia de peso, el PER y el NPR al reemplazar progresivamente la proteína de maíz nixtamalizado por la proteína de pescado hidrolizado. El aumento de la ganancia de peso, el PER y el NPR fue muy rápido y lineal al incrementar los niveles de incorporación de hidrolizado de proteína de pescado en la dieta. En efecto, al aumentar de 0 a 20% el porcentaje de hidrolizado de proteína pescado como proporción de la proteína de la dieta, la ganancia de peso aumentó un 140%, el PER aumentó un 60% y el NPR un 30%.

El menor incremento en el NPR con respecto al PER es explicable debido a que el NPR considera que una parte de la proteína en la dieta sirve para el mantenimiento del animal.

Sin embargo, al continuar incrementando la proporción de proteína

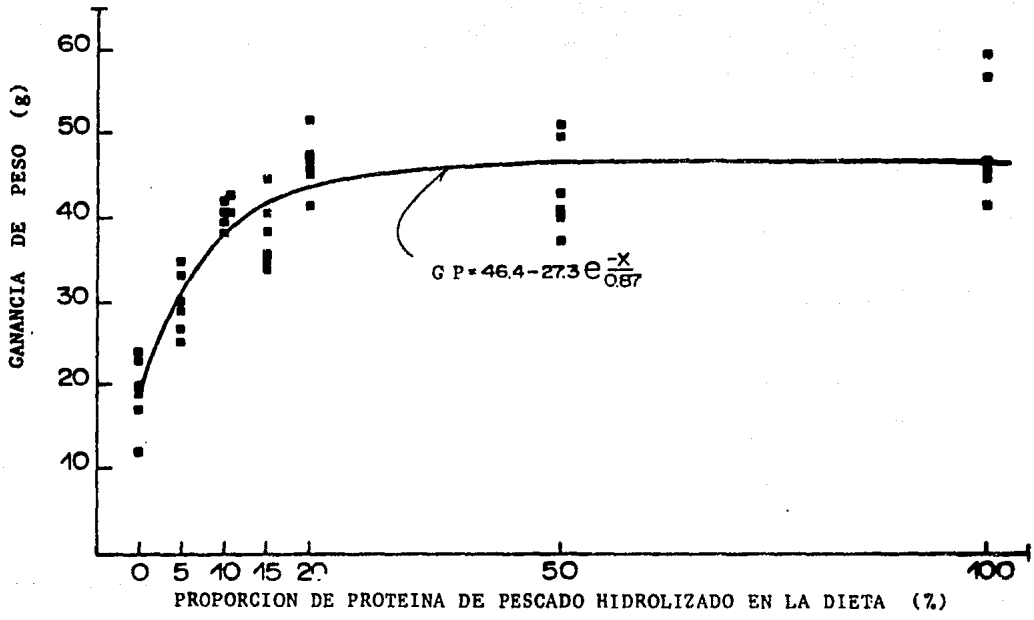

Figura 4. Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado sobre la ganancia de peso.

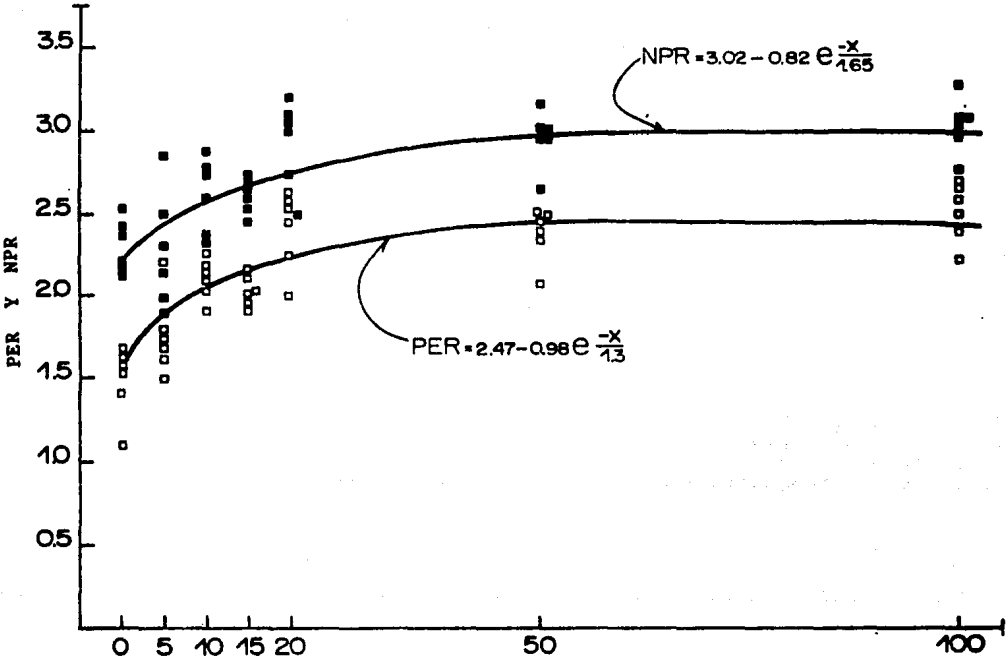

Figura 5. Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado sobre el PER y el NPR.

Cuadro 9. Valor químico, contenido de aminoácidos indispensables y de lisina reactiva de las dietas comparado con el patrón de requerimientos de la FAO. (mg/100g de proteína).

	Relación HPP : NIXTAMAL (%)							
Aminoácidos	0:100	5:95	10:90	15:85	20:80	50:50	100:0	Patrón FAO[1]
Lisina	2.9	3.2	3.4	3.7	4.0	5.6	8.2	5.5
Lisina Reactiva	2.0	2.3	2.5	2.8	3.0	4.5	7.0	-
(%) Lisina Reactiva	70.0	72.2	73.5	75.1	76.3	81.1	85.0	-
Leucina	12.5	12.2	11.8	11.5	11.2	9.2	5.9	7.0
Isoleucina	3.0	3.0	3.1	3.1	3.2	3.4	3.8	4.0
Valina	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.3	4.4	5.0
Metionina + Cistina	2.3	2.5	2.6	2.7	2.8	3.5	4.6	3.5
Fenilalanina + Tirosina	8.9	8.8	8.7	8.5	8.4	7.7	6.5	6.0
Treonina	4.0	4.0	3.9	3.9	3.9	3.8	3.6	4.0
Triptofano	0.58	0.59	0.62	0.63	0.65	0.75	0.93	1.00
valor químico	lis 49	lis 54	lis 58	trp 59	trp 62	trp 71	val 84	

1 FAO/WHO: Energy and Protein Requirements, 1973 (20).

proveniente del hidrolizado de proteína de pescado en la dieta el efecto producido sobre la ganancia de peso, el PER y el NPR fue cada vez menor. Efectivamente, al aumentar el porcentaje de proteína de pescado hidrolizado en la dieta de 20% a 100% la ganancia de pesó aumentó de 46.2 g a 49.15 g; el PER y el NPR aumentaron de 2.41 a 2.48 y de 2.95 a 3.00 respectivamente. Esta disminución en la velocidad de aumento de la respuesta (GP, PER y NPR), está probablemente asociada a la composición de aminoácidos de la mezcla (cuadro 9) ya que las deficiencias en el contenido de aminoácidos del maíz han sido corregidas por la adición del hidrolizado de proteína de pescado.

El ajuste por regresión de los datos experimentales a los modelos propuestos (cuadro 10), da coeficientes de correlación de 0.86, 0.85 y 0.87, para la GP, PER y NPR respectivamente, lo que sugiere que la predicción hecha por el modelo es adecuada.

La digestibilidad aparente del nitrógeno aumentó en forma directamente proporcional al contenido de proteína de pescado en la dieta (figura 6). Sin embargo, la variabilidad encontrada fue elevada, lo que se refleja en un coeficiente de correlación de 0.57 y un coeficiente de determinación de 0.32 (cuadro 10). Este resultado podría explicarse porque la digestibilidad de un nutrimento depende de diversos factores como: la facilidad con que el nutrimento se degrada y absorbe en el tracto intestinal, la presencia de compuestos que interfieren en la absorción (fitatos, etc.), así como el estatus metabólico del animal que puede incrementar o reducir la excreción de productos nitrogenados (hormonas protéicas, enzimas, células de descamación, etc.). Adicionalmente, de la excreción de nitrógeno medida en la heces, más del 50% proviene del nitrógeno metabólico, lo que hace que la digestibilidad aparente del nitrógeno sea un parámetro semicuantitativo.

La lisina reactiva de la harina de maíz nixtamalizado es baja (70%), (cuadro 9) esto podría deberse a que el cocimiento alcalino al que fue sometido el maíz modificó la estructura química de la lisina haciéndola menos disponible para el animal. Efectivamente, se ha reportado que el tratamiento térmico en condiciones alcalinas disminuye la digestibilidad de la proteína por la presencia de productos racemizados (lisinoalanina, lantionina, ornitoalanina y D-aminoácidos) además, la lisinoalanina origina alteraciones renales en las ratas (nefrocitomegalia) que consiste en la amplificación del núcleo y un aumento en la cantidad de citoplasma

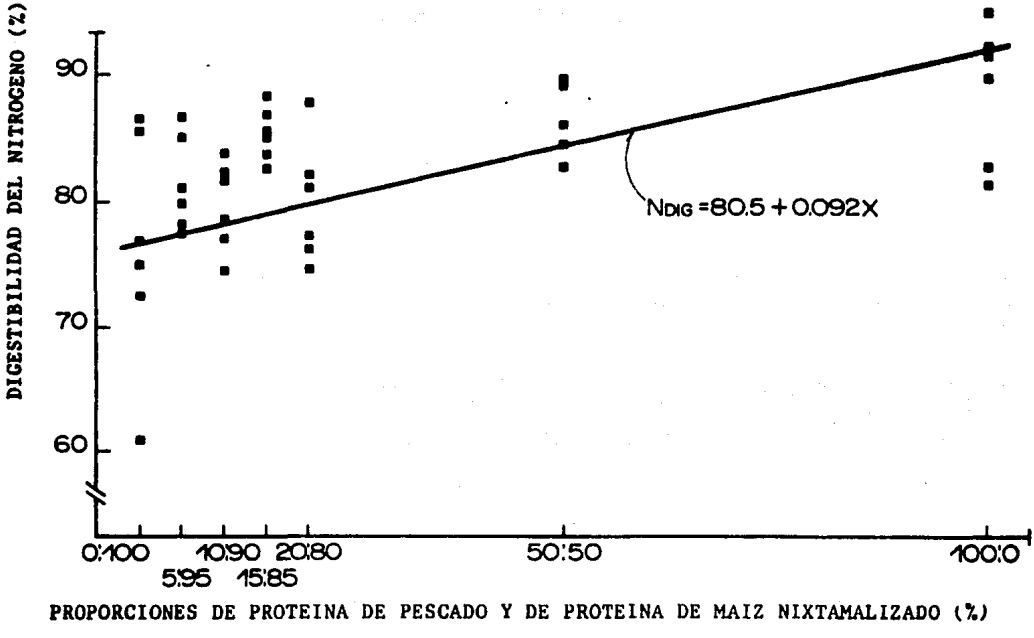

Figura 6. Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado sobre la digestibilidad del nitrógeno.

Cuadro 10. Efecto de la sustitución parcial y total de la proteína de maíz nixtamalizado por un hidrolizado de proteína de pescado sobre la ganancia de peso (GP), el PER, el NPR y la digestibilidad del nitrógeno (DAN).

Variable dependiente	Ecuación de regresión	r	R^2	E.E. de A1
Ganancia de peso	$GP = 46.4 - 27.3\, e^{-x/0.87}$	0.86	0.75	2.51
PER	$PER = 2.47 - 0.98\, e^{-x/1.3}$	0.85	0.72	0.095
NPR	$NPR = 3.02 - 0.82\, e^{-x/1.65}$	0.77	0.59	0.107
				E.E de m
DAN	$DAN = 0.092x + 80.51$	0.57	0.32	0.02

x = Porcentaje de proteína de pescado en la dieta (1 unidad = 10%).
E.E = error estandar.
r = coeficiente de correlación.
R^2 = coeficiente de determinación.

en las células epiteliales de la porción recta de los túbulos proximales (21).

El valor de lisina reactiva para el hidrolizado de proteína de pescado fue de 85% (cuadro 9), esto sugiere que el tratamiento enzimático, y los procesos de inactivación de la enzima, evaporación y secado a los que fue sometida la proteína de pescado provocaron que sólo un 15% de la lisina presente en la proteína de pescado sufriera reacciones de Maillard, de racemización o de entrecruzamiento para formar productos que no son biodisponibles.

Con base en lo anterior podemos decir que el reemplazo progresivo de proteína de maiz por proteína de pescado hidrolizado aumenta la proporción de lisina que no ha sufrido cambios en su estructura química y por lo tanto puede ser disponible (cuadro 9).

Mencionamos anteriormente que en los primeros niveles de suplementación se observaba un comportamiento lineal, para corroborar esto decidimos hacer una regresión lineal utilizando los resultados obtenidos en este experimento y los resultados de otro experimento donde las condiciones del ensayo fueron las mismas pero los niveles de reemplazo fueron de 0%, 10%, 20% y 30% (1). Las ecuaciones obtenidas para la ganancia de peso, el PER y el NPR se muestran en el cuadro 11. Los altos coeficientes de correlación obtenidos, 0.86, 0.82 y 0.80, respectivamente, indican que el modelo de predicción es correcto. En efecto, cuando reemplazamos la proteína de maíz nixtamalizado por la proteína de pescado hidrolizado a niveles que van de 0 a 30% el incremento de la ganancia de peso, el PER y el NPR es rápido y lineal (figuras 7, 8 y 9). Este comportamiento se explica porque el PER, el NPR y la ganancia de peso expresan el crecimiento que es capaz de sostener el primer aminoácido limitante en la dieta, por lo tanto, el crecimiento del animal será directamente proporcional al contenido de dicho aminoácido en la dieta.

Los resultados obtenidos sugieren que un nivel de reemplazo de alrededor de 20% de proteína de maíz nixtamalizado por proteína de pescado hidrolizado sería el más adecuado para obtener el mayor incremento de la ganancia de peso, del PER y del NPR. Los cambios en la digestibilidad aparente de nitrógeno están enmascarados por una mayor secreción de compuestos nitrogenados producto de un anabolismo más acelerado en los animales que consumen una dieta con 20% de proteína de pescado hidrolizado comparativamente a los que reciben la dieta sin

Cuadro 11. Efecto de la sustitución parcial (hasta 30%) de la proteína de maíz nixtamalizado por un hidrolizado de proteína de pescado sobre la ganancia de peso (GP), el PER y el NPR.

Variable dependiente	Ecuación de regresión	r	R^2	E.E.
GP	GP = 21.94 + 1.24x	0.86	0.73	0.1033
PER	PER = 1.46 + 0.041x	0.82	0.68	0.0039
NPR	NPR = 2.21 + 0.034x	0.80	0.65	0.0034

x = Porcentaje de proteína de pescado en la dieta.
1 unidad = 10 %
E .E. = Error estándar de la pendiente.

r = coeficiente de correlación.

R^2 = coeficiente de determinación.

suplementación.

Diversos investigadores (11, 12,19,41,44) han tratado de mejorar el valor nutritivo de la tortilla sin que se afecten sus propiedades organolépticas. Se encontró que las siguientes mezclas (las proporciones están expresadas en porcentajes en peso): harina de maíz: harina de amaranto (80:20); maíz:garbanzo (80:20); harina de maíz: harina de soya (92:8); harina de maíz: concentrado de proteína de pescado (97.5:2.5), mejoran el valor nutritivo de la tortilla sin alterar sus propiedades organolépticas.

Un nivel de reemplazo de 20% significa que sería necesario añadir 2.g de hidrolizado de proteína de pescado por cada 97.5 g de harina de maíz nixtamalizado. Con base en los resultados encontrados en la literatura podemos suponer que las tortillas que se preparen con éstas proporciones, no observaran cambios en sus propiedades organolépticas.

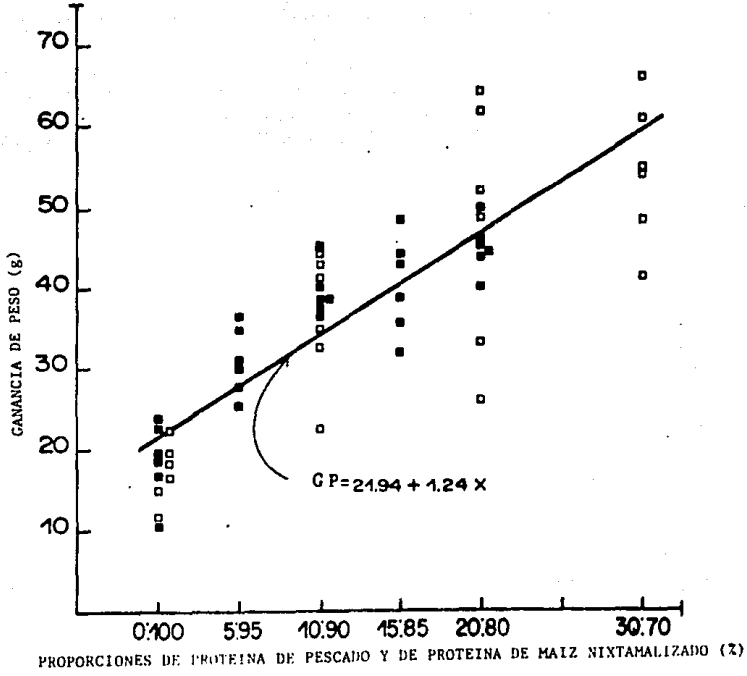

Figura 7.Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado (0-30%) sobre la ganancia de peso.

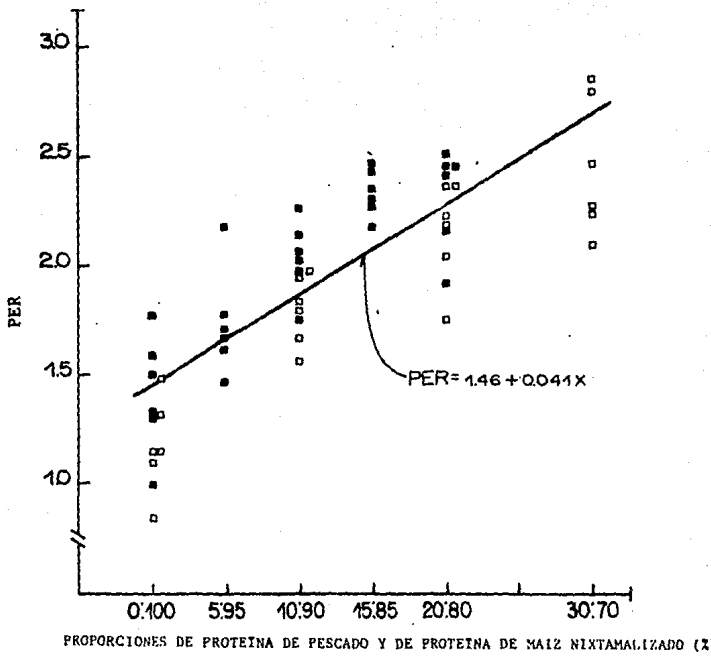

Figura 8. Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado (0-30%) sobre el PER.

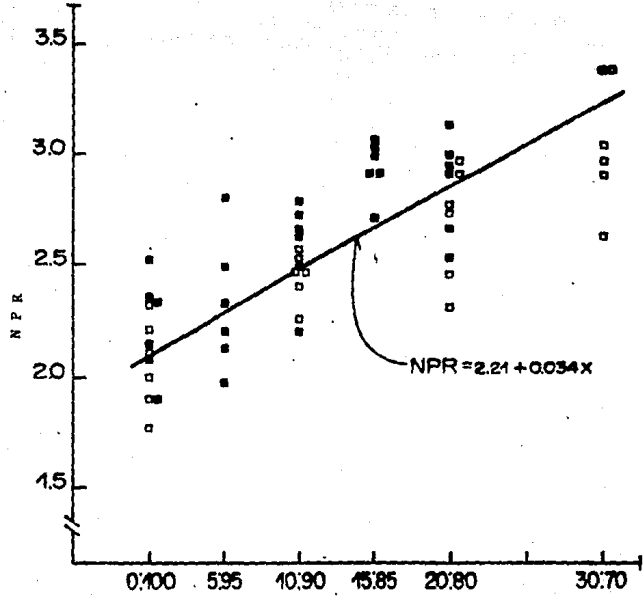

Figura 9. Efecto del nivel de proteína de pescado hidrolizado (0 -30%) sobre el NPR.

6. CONCLUSIONES.

El contenido elevado de lisina y triptofano y un mejor balance de los aminoácidos ramificados de la proteína de pescado hidrolizado explican el aumento en el valor nutritivo de dietas a base de proteína de maíz suplementadas con un hidrolizado de proteína de pescado.

Los modelos propuestos para explicar los resultados de ganancia de peso, PER y NPR sugieren que debe recomendarse el enriquecimiento de la proteína de maíz nixtmalizado con pequeñas cantidades de hidrolizado de proteína de pescado. El nivel de suplementación más alto sugerido por estos modelos equivale a reemplazar 20% de la proteína de la dieta, incorporando de 2.5% a 3% (p/p) de hidrolizado de proteína de pescado.

Los modelos propuestos para explicar los resultados de ganancia de peso, PER, NPR y digestibilidad del nitrógeno permiten predecir el comportamiento de dichas variables cuando se utilizan diferentes niveles de suplementación de la proteína de maíz nixtamalizado con un hidrolizado de proteína de pescado.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Argaiza Laura. Obtención de un hidrolizado de proteína de pescado por vía enzimática y su uso para suplementación de dietas a base de maíz. Tesis. Universidad Iberoamericana. Publicación pendiente.

2. Allison J.B. The efficiency of utilization of dietary proteins en: Protein and aminoacid nutrition. New York Academic Press. 1959 pp 97.

3. Association of Official Agricultural Chemestry (A.O.A.C.) Official methods of analysis. 11th. ed. Washington D.C. 1975.

4. Baca Díaz Rebeca. Uso de proteasas bacterianas para obtención de un hidrolizado de proteína de pescado. Tesis. U. Iberoamericana, México, 1990.

5. Behar M. Food and nutrition of the Maya before the conquest and at present time. Biochemical challenges presented by The American Indian Publication of The Panamerican Health Organitation, 1958.

6. Bender A.E. Biological evaluation of proteins a new aspect. Brit. J. Nutr. 1957, 11 :140.

7. Bender A.E., Miller D.S. A new brief method of estimating net protein value. Biochem. J. 1953, 57: 20.

8. Bertulio V. Tecnología de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustáceos. Ed. hemisferio Sur. 1a. edición. México 1973 pp 427.

9. Block R.J., Mitchell H.H. A method of determining the biological value of protein. Nutr. Abstr. Rev. 1946, 16: 249.

10. Bourgeois C.M, Le Roux P. Proteínas animales. El Manual Moderno. México, 1986.

11. Bressani R., Hernández E., Colón A., Wolzak A., Gómez-Brenes R. Efecto suplementario de tres fuentes de proteina de soya sobre diferentes selecciones o productos de maíz.

12. Bressani R., Marenco E. The enrichment of lime treated corn flour with proteins, lysine, tryptophan and vitamins. J. Ag. Food Chem. 1963, 6:517.

13. Bressani R., Scrimshaw N.S. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. J. Agric. and Food Chem. 1958, 6: 770.

14. Bressani R., Scrimshaw N.S. Efect of lime treatment on in vitro availability of essential aminoacids and solubility of proteins fractions in corn. J. Agric. Food Chem. 1958, 6: 774.

15. Carpenter K.J. The estimation of available lysine in animal proteins foods. Biochem. J. 1960, 77: 604.

16. Cherry P.J. Symposium series. Washington, D.C. American Chemical Society. 1981, 147:143.

17. Díaz Castañeda M., Brisson G.J., Pégeot F. Nutritive value of lime treated corn and hidrolysed fish protein mixtures. Nutrition Reports International. 1986, 33: 811.

18. Díaz Castañeda M., Brisson G.J. Replacement of skimmed milk with hidrolised fish protein and nixtamal in milk substitutes for dairy calves. J. dairy Sci. 1987, 70: 130.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

19. Ellas L.G., Bressani R. Nutritional value of the protein of tortilla flour and its improvement by fortification in central America. En: Nutritional improvement of maize. R. Bressani, J. E. Braham , M. Béhar(editors). Procedings of an International Conference Held at the Institute of Nutrition of Centralamerica and Panama (INCAP). Guatemala city, 1972. Talleres gráficos del INCAP pp 168 - 190.

20. FAO/WHO: Energy and Protein Requirements. En: Report of a joint FA/WHO AD HOC Export Group. Nutr. Rep. Series No. 52. 1973, FAO. Roma.

21. Feeney R.E., Whitaker J.R. Modification of proteins. Food, nutritional and pharmacological aspects. Whashington, D. C. American Chemical Society, 1982 pp 91 - 118.

22. Finch R. Fish proteins for human foods. En: Critical reviews on food Technology,1970, 1: 533.

23. Friedman M. Protein nutritional quality of foods and feeds. Part 1. Assay methods, biological, biochemical and chemical. New York, N.Y. Marcel Dekker Inc., 1975 pp 67- 77.

24. Gálvez M.A., Morales J., Bourges H. Development of an enzymatic fish hydrolizate and its use in instant soup bases. Arc. Latinoamer. Nutr. 1985, 35: 686.

25. Gruenwedel W.D., Whitaker R. J. Food Analysis, Principles and techniques. Vol. Biological Techniques. New York, N.Y. Marcel Dekker Inc. 1985, pp 1-30, 480-497.

26. Harper A.E., Block K.P., Cree T.C. Branched-chain aminoacids: ntritional and metabolic interrelationship. IVth. Int. Sym. Protein metabo sm and nutrition. Ed. INRA Publ. 1983.

27. Harper A. E., Benton D. A., Elvehjem C. A. L-leucine and isoluecine antagonist in the rat. Arch. Biochem. Biophys.,1955. 57:1.

28. Hurrel R. E., Carpenter K. J. The estimation of available lysine in foodstuffs after Maillard reactions. Nestlé Reserch News, 1982/83:78.

29. Katz S. H., Heidiger R. S., Valleroy L. A. Traditional maize processing techniques in the new world. Science. 1974, 84:765.

30. Laguna J., Piña G. E. Bioquímica. 3a. Edición. Fournier. México, 1983: pp 547 - 555.

31. Lalasidis G. Bostrom S., Sjoberg L.S.: Low molecular weight enzimatic fish protein hidrolisates: Chemical composition and nutritive valve.J. Agric. Food Chem. 1978, 26:751.

32. Lehninger A. L.: Bioquímica. Ediciones Omega. Barcelona, España. 1984 pp 683 - 689, 121, 616.

33. Martínez Flores Gabriel Obtención de un hidrolizado de proteína de pescado a partir de lisa (Mugil cephalus) y determinación de su valor nutricional. Tesis UNAM, México, 1989.

34. Mc. Laughlan J. M. Nutritional evaluation of proteins by biological methods. Cereal Science Today. 1972, 17: 162 - 165.

35. McPherson C.M., Ou S.L. Evaluation of corn tortillas supplemented with cottonseed flour. J. Food Sci. 1976, 41: 1302.

36. Mitchell H.H. A method of determining the biological value of protein. J. Biol. Chem. 1924, 58: 873 - 885.

37. Montgomery, D. C. Desing and analysis of experiments. Ed. John Wiley and sons. U.S.A 2a. edición, 1984.

38. Munro H.N. Mammalian protein metabolism. New York: Academic Press,1969: Vol. III pp 391 - 417.

39. Osborne T.B., Mendel L.B., Ferry E.L. A method of expresssing numerically the growth-promoting value of proteins. J. Biol. Chem. 1919, 37: 223- 229.

40. Paulis J. W., Christopher James, Wall J. S. Coparison of glutelin proteins in normal and high lysine corn endosperms. J. Agr. Food Chem. 1969, 17 No.6: 1301.

41. Sánchez M. A., Feria M. A., Maya S., Ramos M. V. Processing, nutritional quality and sensory evaluation of amaranth enriched corn tortilla. J. of Food Science. 1987, 52 No. 5: 1611.

42. Secretaría de Pesca. Anuario Estadístico de Pesca 1987. Dirección General de Informática, estadística y Documentación. México, D. F.

43. Soriano Santos Jorge Lisina reactiva y valor biológico de semillas procesadas de A. hypochondelacus. Tesis de maestría. UNAM. México. 1987.

44. Sotelo A., Hernández M. Protein quality of masa and tortillas supplemented with chickpea. Nutrition Reports International. 1987, 36: 213.

45. Thomas K. The biological value of nitrogenous substances in different foods. The question on the physiological protein minimun. Arch. Physiol. 1909, 219-302.

46. Weatherborn M.W.: Phenol-hypoclorite reaction for determination of ammonia. Anal. Chem. 1967, 39: 971.

47. Windsor M., Barlow S.: Introducción a los productos de pesquería. Ed. Acribia. España, 1984.

Yañez D. E., Ballester D. M, Monckeberg F. : Enzymatic fish protein hydrolizate: Chemical composition, nutritional value and use as a supplement to cereal protein. J. food Sci., 1976, 41: 1289.

APENDICE

Reactivos A y B del método de determinación de nitrógeno.

Reactivo A.

Se disuelven 10 g de fenol y 50 mg de nitroprusiato de sodio en un litro de agua destilada.

Reactivo B.

Se disuelven 5.0 g de hidróxido de sodio y 9.0 ml de solución de hipoclorito de sodio al 4% en un litro de agua destilada.