

870106

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA ¹2ej
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE BIOLOGIA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

“ DETERMINACION DE AMINOACIDOS ESENCIALES
EN CASCARA Y PULPA DE CAMARON BLANCO
(Penaeus vannamei BOONE 1931) POR
CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA,

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

ANDRES BARRAZA LOPEZ

GUADALAJARA, JALISCO, 1990.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN

ABSTRACT

1.- INTRODUCCION.....	1
2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	5
2.1.- CAMARON.....	5
2.2.- PROTEINAS.....	10
2.3.- AMINOACIDOS.....	12
2.4.- CROMATOGRAFIA.....	28
3.- MATERIALES Y METODOS.....	34
4.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
5.- CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	53

AGRADECIMIENTOS

Agradezco especialmente la dirección del Dr. Arturo Murillo Beltrán, Coordinador de Investigación Científica de la Universidad Autónoma de Nayarit y al Q.F.B. Juan Rentería Sandoval Catedrático de la U.A.N. sin los cuales este trabajo no haya sido posible.

Al Biólogo José de J. Viscarra T. mi asesor, por su paciencia para conmigo. La comunicación que trató de mantener, sus comentarios y su capacidad personal, aunada a su escrupulosa Formación Profesional.

A mis padres con admiración, respeto, cariño y la gran confianza que depositaron en mí.

A mi esposa y a mi hijo Edgar quienes me tuvieron la paciencia y me dedicaron el tiempo posible para la realización de este trabajo.

Por su amistad y apoyo al Biólogo Carlos L. Díaz Luna.

A mis maestros por las enseñanzas profesionales que me transmitieron.

Finalmente quiero agradecer a quienes compartieron conmigo todo este tiempo y que me apoyaron en diversas formas: Cecilia, Romualdo, Ricardo, Alfredo, Mony, Paty, Jorge, Hugo, Sixto, Ciriaco, Pedro, Miguel y a quien haya olvidado mencionar.

A todos ellos muchas gracias.

R E S U M E N

Considerando que la escasez de alimento es un problema mundial, que el camarón blanco (Penaeus vannamei BOONE) es de gran valor nutritivo y muy comercial en el Estado de Nayarit y sabiendo que el aprovechamiento de este crustáceo no se lleva a cabo de una manera completa, pues solo se utiliza la pulpa, desechandose la cáscara, se planteó en éste trabajo un estudio cualitativo comparativo de la cáscara y pulpa de camarón, teniendo como objetivo, dar una alternativa de utilización de la cáscara en la obtención de aminoácidos esenciales.

En la realización de ésta tesis se utilizó la técnica de cromatografía bidimensional en capa fina, para la identificación de los aminoácidos esenciales presentes en la cáscara y pulpa del camarón.

Se encontraron nueve aminoácidos esenciales: Lisina, Arginina, Histidina, Treonina, Valina, Metionina, Leucina, Fenilalanina y Triptófano.

A B S T R A C T

Considering that the unefficient of food is a world problem, that the white shrimp (Penaeus vannameiBOONE) is of great nutritive value and very comercial in the Estate of Nayarit and knowing that the advantage of this crustacean doesnt take place as a complete manner, cause just the pulp is used, shell throw away, it was planned in this work a cualitative, comparative study of the shell and pulp of shrimp, laving as objetive, give an alternative of utilization of the shell in the obtention of essencial amino acids.

In the realization of this thesis the technique of bidimensional chromatography in fine cape was utilized, for the identification of the essencial amino acids present in the shell and pulp of the shrimp.

Nine essencial amino acids were found: Lysine, Arginine, Histidine, Threonine, Valine, Methionine, Leucine, Phenylalanine, and Tryptophan.

C A P I T U L O 1

INTRODUCCION

En el Estado de Nayarit se efectúa la pesca costera y la de litoral, no contando con embarcaciones mayores para realizar la pesca de altura (22).

Dentro de la pesca costera se encuentra la pesca de zonas estuarinas, correspondiéndole éste tipo principalmente al Estado de Nayarit, ya que cuenta con 92,400 Has. (23).

La actividad pesquera del Estado en 1984 registró una captura total de 14,441 toneladas (camarón, escama, tiburón etc.) ésta estadística registra que el 14% del total corresponde a la captura de camarón de estero y no cuantifica la captura de camarón de mar, lo que indica que la explotación de éste crustáceo se efectúa básicamente en los esteros (2).

La organización de los pescadores de Nayarit para la explotación de los recursos pesqueros es a través de la Sociedad Cooperativa Unica de Pescadores "Adolfo López Mateos" Con sus 22 secciones que operan en el Estado que son los que poseen la concesión del recurso. Además existen los pescadores libres que explotan cantidades considerables del camarón.

Las comunidades pesqueras de Nayarit que conforman la Cooperativa Unica de Pescadores, entregan el camarón fresco con cabeza a la planta empacadora de Chilapa, ubicada en el

ejido del mismo nombre del Municipio de Rosamorada, y que pertenece a la propia Cooperativa "Adolfo López Mateos" (22).

En esta planta a pesar de tener capacidad para realizar distintos procesos, solamente se descabeza el camarón y se empaca en marquetas; además se congela pescado entero desviscerado y en troncho (22).

La comercialización del camarón se da básicamente a través de tres canales de distribución: Ocean Garden, Prope-mex, y compradores particulares (28).

Es por lo tanto la pesca del camarón de estero una de las actividades más importantes dado el valor de su producción, economía, y la ocupación que genera; así pues, a ella se dedican las principales localidades del norte de la Entidad (Mexcaltitán municipio de Santiago Ixcuintla, Chaguín municipio de Tecuala y Pimientillo y Pescadero municipio de Rosamorada) (22).

La mayor parte de camarón en el Estado es un producto de exportación, lo que ha generado que se maneje totalmente industrializado. En términos generales la producción pesquera se ha desarrollado alentadoramente ya que satisface las necesidades regionales; si bien se introduce un volumen menor que otros estados, existen excedentes para el mercado local, nacional, y para exportación, siendo de interés precisar que en los últimos tres años se ha venido incrementando la captura,

habiéndose obtenido durante 1985 según datos (22), tres millones de dólares con exportaciones de aproximadamente 400 toneladas de camarón al mercado de E.U.A.

Aproximadamente un 15% de la producción total de camarón de la Entidad se utiliza para consumo local. El aprovechamiento de éste crustáceo se lleva a cabo de una manera incompleta consumiéndose únicamente la pulpa, quedando como sobrante la cascara (exoesqueleto) y la cabeza (cefalotórax). Esta última en algunas ocasiones se utiliza seca y molida como complemento alimenticio (22).

En cuanto a la cáscara de camarón se utiliza por lo general como alimento para los cerdos y otra parte se desecha como desperdicio, de manera individual o revuelto con los desechos sólidos. Trayendo como resultado malos olores y la creación de fauna nociva, que consecuentemente ocasiona la contaminación del ambiente (22).

Los desechos de la cáscara de camarón en la Entidad son cantidades significativas, ya que según datos de 1984 se registraron aproximadamente 30 toneladas, lo cual es consecuencia del mal aprovechamiento del recurso (2).

Considerando que la escasez de alimento es un problema mundial y que el aprovechamiento de éste crustáceo que contiene gran valor nutritivo se lleva a cabo de una manera parcial, pues solo se utiliza la pulpa, desechando la cubier-

ta, en el presente trabajo se planteó un estudio preeliminar comparativo de la pulpa y cáscara de camarón blanco (Penaeus vannamei BOONE) como una alternativa del aprovechamiento de la cáscara para la obtención de aminoácidos esenciales.

C A P I T U L O 2

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

2.1 CAMARON

Penaeus vannamei BOONE: ésta especie de crustáceo es conocido con el nombre vulgar de camarón blanco y fue descrito por Barnes (3) en la siguiente posición taxonomica:

Phyllum	Arthropoda
Clase	Crustacea
Subclase	Malacostraca
Serie	Eumalacostraca
Superorden	Eucarida
Orden	Decapoda
Suborden	Natantia
Sección	Penaeidea
Familia	Penaeidae
Género	<u>Penaeus</u>
Especie	<u>vannamei</u>

MORFOLOGIA: el camarón blanco es un organismo mandibulado con apéndices birrameos articulados, dos pares de antenas, caparazón, branquias, larva nauplio y de hábitos acuáticos. Su cerebro es trilobulado, presenta sistema nervioso ventral

desde el tórax al abdomen y corazón dorsal.

Una de las principales características de ésta especie es la presencia de un exoesqueleto de origen quitinoso, secretado por la epidermis con calcificación posterior, siendo ésta parte donde más se evidencia la segmentación del cuerpo (24).

Su cuerpo se encuentra dividido en tres regiones principales: cefalotórax o cabeza, abdomen y telson.

Cefalotórax.- Se encuentra localizada en la parte anterior del organismo y contiene la mayor parte de los órganos vitales, así tenemos: rostro, mandíbulas, maxilas, maxilípedos, anténulas, antenas, aparato bucal; interiormente se encuentran la parte anterior y media del aparato digestivo, hepatopáncreas, branquias, gónadas; exteriormente se observan cinco pares de patas que le sirven para caminar y se llaman ambulacrales, caminadoras o pereiópodos (9).

Abdomen.- Es la parte comercial del camarón, ya que está constituida por la masa muscular comestible. Cada uno de los cinco primeros segmentos abdominales presenta un par de apéndices que le sirven para nadar, llamados pleópodos.

Telson.- Se encuentra en la parte final del último segmento (sexto) acompañado de dos pares de apéndices llamados urópodos, que conjuntamente forman el abanico caudal, que le sirve para impulsarse (9).

CICLO DE VIDA: su ciclo de vida es corto (de uno a dos años), el cual consiste en las fases de huevo, larva, postlarva, juvenil y adulto. Este último que mide por encima de los 140 mm. (20), madura y se reproduce en mar abierto, posteriormente los huevecillos eclosionan dando lugar a la larva, que sufre tres estadios larvarios: nauplio, protozoa y misis. Las larvas son arrastradas por las corrientes marinas hacia bocas estuarinas y lagunas litorales donde entran en forma de postlarva, que mide aproximadamente 5 mm. (5), asumiendo así las proporciones generales de un adulto en miniatura, las postlarvas emigran y se concentran en áreas marginales someras de las zonas estuarinas; conforme crecen se adentran al estero transformándose en juvenil que es a partir de los 25 mm. (24), son de hábitos bentónicos, crecen hasta preadultos (10 a 12 cm.) (6), siendo en esta etapa cuando el camarón se dirige a aguas más profundas del océano, desarrollándose hasta adulto para completar su ciclo de vida.

REPRODUCCION: el camarón blanco es heterosexual, es decir, existen machos y hembras, entre los cuales hay marcado dimorfismo sexual, siendo notorio el mayor tamaño que alcanza la hembra en el estado adulto.

El macho presenta un organo copulatorio que recibe el nombre de petasma, que ésta constituido por la modificación de los endopoditos del primer par de pleópodos; además el orificio sexual se abre en la base de las coxas del quinto par de

pereiópodos.

En la hembra, el órgano copulatorio recibe el nombre de tético, y está formado por la superficie de los esternitos de los últimos tres segmentos del cefalotórax; el orificio sexual se abre en la base de las coxas del tercer par de pereiópodos.

La fertilización se realiza externamente, es decir el macho se sirve del apéndice masculino (petasma) para depositar el espermátforo en el tético de la hembra; posteriormente la fertilización se lleva a cabo al salir los óvulos por el orificio sexual y hacer contacto con los espermatozoides contenidos en el espermátforo previamente adherido (8).

Lindner y Cook (8) estiman que una hembra de camarón blanco puede producir de 500,000 a 1,000,000 de huevecillos en el desove.

Los huevecillos son de color café dorado, redondos y translúcidos, miden de 0.22 mm. hasta 0.32 mm. Eclosionan de 11 a 18 horas después del desove (a temperaturas entre 27°C y 29°C) (24).

ALIMENTACION: el primer estadio larval, nauplio, utiliza sus reservas de vitelo; las protozoas son fitoplantófagas, misis y postlarvas se alimentan de zooplancton, los juveniles y adultos son omnivoros (24).

El camarón blanco se alimenta tanto de día como de

noche, estando su periodo digestivo relacionado con la temperatura ya que decrece conforme aumenta, además tambien es capaz de digerir quitina y celulosa (23).

La quitina es un importante polisacárido estructural de los invertebrados. Se encuentra por ejemplo en los caparazones de los crustáceos (camarón blanco).

Químicamente la quitina está formada, al parecer, por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces B(1-4)-glucosídicos (13).

DISTRIBUCION GENERAL: el camarón blanco se encuentra distribuido desde el extremo norte del Golfo de California hasta Tumbes, Perú. Los adultos se localizan desde 2 a 20 brazas de profundidad, especialmente entre 5 y 10 brazas, los juveniles estan localizados en aguas interiores (21).

2.2 PROTEINAS

La hemoglobina es el pigmento respiratorio que se encuentra confinado en los eritrocitos de la sangre de los vertebrados, cuya función biológica consiste en el transporte de oxígeno y bióxido de carbono, el primero desde los pulmones a los tejidos y el último inversamente. La hemoglobina es una macromolécula formada por cuatro cadenas polipeptídicas y pertenece al tipo de compuestos llamados proteínas.

El nombre de proteínas según Farías (12) les viene del griego protos (primero), que significa que son sustancias esenciales, ya que a través de ellas se producen los principales fenómenos de la vida. Además son las moléculas orgánicas más abundantes en las células, ya que constituyen el 50% o más de su peso seco (15). Se encuentran en todas las partes de las células y son importantes tanto estructural como funcionalmente.

Las proteínas son un grupo de sustancias complejas que tienen varias propiedades en común; contienen nitrógeno, hidrógeno, oxígeno y carbono, a veces otro tipo de átomos tales como: azufre, fósforo y otros minerales. Se utilizan principalmente para la formación de tejidos, hormonas, enzimas y otras sustancias indispensables para la vida, pero también pueden quemarse en el organismo para producir energía.

Las proteínas se hallan constituidas por alfa aminoaci-

dos unidos entre sí, covalentemente por enlaces peptídicos (ver fig.1). Sus pesos moleculares varían desde 5000 hasta 1'000,000 o más. Todas las proteínas independientemente de su función biológica o de la especie de origen, están formadas básicamente por 20 alfa aminoácidos (15).

Existen dos clases de proteínas basándose en su composición:

A) Proteínas simples B) proteínas conjugadas

Las proteínas simples, son aquellas que por hidrólisis nos producen únicamente aminoácidos, sin ningún otro tipo de componente orgánico o inorgánico. Generalmente contienen: 50% de carbono, 7% de hidrógeno, 23% de oxígeno, 16% de nitrógeno, y de 0 a 3% de azufre (15).

Las proteínas conjugadas, son compuestos que por hidrólisis producen además de aminoácidos otros componentes orgánicos e inorgánicos. La porción no aminoácida de una proteína conjugada se llama grupo prostético, el cual permite clasificarlas de acuerdo a su naturaleza química y así tenemos: fosfoproteínas, nucleoproteínas, glucoproteínas, lipoproteínas etc. que contienen respectivamente fósforo, ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos (15).

2.3 AMINOACIDOS

Los aminoácidos naturales generalmente son alfa aminoácidos que poseen un grupo amino y un carboxilo unidos al mismo átomo de carbono alfa.

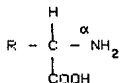


Fig. 1. alfa Aminoácido.

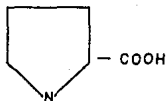
Aunque más de 200 tipos de aminoácidos diferentes existen en la naturaleza, solo cerca de la decima parte ocurren en las proteínas. Lo que nos indica que las proteínas de todas las formas de vida (vegetal, animal o microbiana) contienen los mismos 20 alfa aminoácidos (13).

(ver tabla 1)

1.- Glicina	11.- Acido glutámico
2.- Alanina	12.- Glutamina
3.- Valina	13.- Lisina
4.- Leucina	14.- Histidina
5.- Isoleucina	15.- Fenilalanina
6.- Serina	16.- Tirosina
7.- Treonina	17.- Triptófano
8.- Cisteína	18.- Prolina
9.- Metionina	19.- Arginina
10.- Acido aspartico	20.- Asparagina

Tabla 1. Principales alfa aminoácidos

Los aminoácidos presentes en las proteínas son alfa aminoácidos, a excepción de la prolina en la cual el grupo alfa amino está sustituido y se trata realmente de un alfa iminoácido Fig. 2.



H
Fig. 2. Prolina


Además cada aminoácido posee un grupo "R" característico, estos grupos "R" son las letras del alfabeto molecular de la estructura protéica. De acuerdo a la polaridad del grupo "R" los aminoácidos se han clasificado en cuatro clases principales:

1.- Polares con carga negativa; los miembros de ésta clase poseen carga negativa neta a pH = 6-7, ejemplo de éste grupo tenemos el ácido aspártico y glutámico cada uno de los cuales contienen un segundo grupo carboxílico (tabla 2).

NOMBRE COMUN	SIMBOLO	FORMULA ESTRUCTURAL	
AC. ASPARTICO	ASP. (D)	GRUPO "R" HOOC - CH ₂	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
AC. GLUTAMICO	GLU. (E)	HOOC - CH ₂ - CH ₂	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$

Tabla 2. Tomada de la referencia (15). Aminoácidos con grupo "R" polares cargados negativamente'

2.- Polares pero sin carga; son aminoácidos más solubles en el agua que los no polares, pero que sus grupos "R", pueden establecer enlaces hidrógeno con el agua. Tabla 3.

NOMBRE COMUN	SÍMBOLO	FÓRMULA ESTRUCTURAL	
		GRUPO "R"	
GLICINA	GLI. (G)	H	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
SERINA	SER. (S)	HO-CH ₂	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
TREONINA	TRE. (T)	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
CISTEINA	CIS. (C)	HS-CH ₂	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
TIROSINA	TIR. (Y)	HO-  -CH ₂	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
ASPARAGINA	ASN. (N)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
GLUTAMINA	GLN. (Q)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$

TARLA 3. Tomada de la referencia (15). Aminoácidos con grupo "R" polares sin carga.

3.- Los no polares o hidrófobos, que son aminoácidos poco solubles en el agua y el miembro menos hidrófobo de ésta clase

es la alanina. Tabla 4.


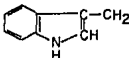
NOMBRE COMUN	SIMBOLO	FORMULA ESTRUCTURAL	
		GRUPO "R"	
ALANINA	ALA.(A)	CH ₃	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
VALINA	VAL.(V)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
LEUCINA	LEU.(L)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH---CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
ISOLEUCINA	ILEU.(I)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_2 \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
PROLINA	PRO.(P)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{---C---} \\ \\ \text{H} \end{array}$
FENILALANINA	FEN.(F)		$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
TRIPTOFANO	TRI.(W)		$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
METIONINA	MET.(M)	$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$

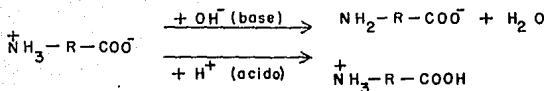
Tabla 4. Tomada de la referencia (15). Aminoácidos con grupo "R" no polares.

4.- Polares con carga positiva; son aminoácidos en que el grupo "R" posee carga positiva neta a pH = 7. Tabla 5.

NOMBRE COMUN	SIMBOLO	FORMULA ESTRUCTURAL	
		GRUPO "R"	
LISINA	LIS. (K)	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
ARGININA	ARG. (R)	$\text{H}_2\text{N} - \text{C}(\text{NH}_2) - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
HISTIDINA	HIS. (H)	$\begin{array}{c} \text{H} \text{C} = \text{C} - \text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{HN} \quad \text{NH} \\ \quad \\ \text{C} \quad \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$

Tabla 5. Tomada de la referencia (15).

CARACTER ANFOTERICO: Como los aminoácidos se combinan tanto con ácidos como con álcalis, se les denomina anfóteros. Un aminoácido típico de fórmula $\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COOH}$ se ioniza en solución tanto como ácido que como base. Cuando la magnitud de dicha disociación es igual tanto en el aspecto ácido como en el alcalino, se dice que el compuesto se halla eléctricamente neutro y en su punto isoelectrico. La adición de un ácido a una base deprimirá proporcionalmente uno de los dos tipos de ionización, por lo que el aminoácido así tratado se comportará como ácido o como alcalí (4).



El carácter anfotérico de los aminoácidos tiene una gran importancia biológica, en virtud de que son los reguladores del pH de los líquidos presentes en el organismo.

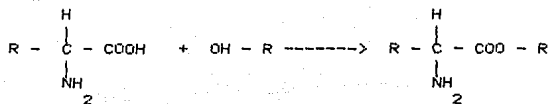
PROPIEDADES FÍSICAS: En el estado sólido y en solución los aminoácidos tienen dos propiedades fáciles de observar y que suministran información acerca de su estructura. Por ejemplo, los aminoácidos con ciertas excepciones, son solubles en agua y bastantes insolubles en los solventes orgánicos no polares del tipo del éter, cloroformo, benceno, hexano y acetona (7).

La otra propiedad física de los aminoácidos que se relaciona con su estructura es su elevado punto de fusión (superior a 200°C). Estas dos propiedades nos indican claramente que se trata de grupos cargados y altamente polares (16).

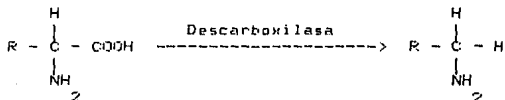
PROPIEDADES QUÍMICAS: Los aminoácidos se unen a diversos metales y dan las sales correspondientes, que son ionizables en mayor o menor proporción de acuerdo al aminoácido.

Otras reacciones características de los aminoácidos son

la esterificación y la descarboxilación, la primera consiste en la reacción del grupo carboxílico con los alcoholes para formar los ésteres correspondientes (17).



La descarboxilación, es la pérdida del grupo carboxilo en forma de anhídrido carbónico. Es un paso metabólico verificado por enzimas que reciben el nombre genérico de descarboxilasas.



Una reacción importante de los aminoácidos es la reacción con ninhidrina, la cual se lleva a cabo en dos pasos; en el primero el aminoácido sufre descarboxilación y desaminación oxidativas; en el segundo paso se une con el reactivo y da un color violeta. Esta reacción tiene interés tanto cualitativo como cuantitativo, en particular en las técnicas cromatográficas (27).

AMINOACIDOS NUTRICIONALES ESENCIALES Y NO ESENCIALES.

Es patente que no todos los aminoácidos se sintetizan con igual facilidad en el organismo. Los aminoácidos esenciales o indispensables son aquellos que tienen que ser suministrados por la dieta ya que el organismo no puede sintetizarlos, contrariamente a los aminoácidos no esenciales o no indispensables que son sintetizados en el organismo.

En la tabla 6 se presenta la clasificación de los aminoácidos esenciales y no esenciales propuesta por Harper (13).

ESENCIALES PARA LA NUTRICION:	NO ESENCIALES PARA LA NUTRICION:
ARGININA ⁺	ALANINA
HISTIDINA ⁺	ASPARAGINA
ISOLEUCINA	AC. ASPARTICO
LEUCINA	CISTEINA
LISINA	AC. GLUTAMICO
METIONINA	GLUTAMINA
FENILALANINA	GLICINA
TREONINA	PROLINA
TRIPTOFANO	SERINA
VALINA	TIROSINA

Tabla 6. Aminoácidos esenciales y no esenciales.

+ La arginina y la histidina en ocasiones se clasifican como

semiesenciales para la nutrición debido a que pueden ser sintetizados en lo tejidos a tasas inadecuadas para apoyar el crecimiento de los niños.

La tabla 7 tomada de Laguna (14) hace referencia sobre la necesidad cuantitativa de aminoácidos esenciales para mantener el equilibrio en el hombre.

AMINOACIDO	REQUERIMIENTO DIARIO EN GRAMOS (El requerimiento mínimo puede ser la mitad de esta cifra)
TRIPTOFANO	0.5
FENILALANINA	2.2
LISINA	1.6
TREONINA	1.0
VALINA	1.6
METIONINA	2.2
LEUCINA	2.2
ISOLEUCINA	1.4

Tabla 7.

REACCIONES METABOLICAS GENERALES DE LOS AMINOACIDOS

Muchos aminoácidos tienen vías metabólicas particulares; sin embargo, hay algunas reacciones generales comunes. Con pocas excepciones, la vía catabólica de los aminoácidos comienza con la separación del grupo amino del esqueleto de

carbonos de la molécula, que se convierte en alfa cetoácido. El amoníaco, en forma libre o combinada, ingresa en el fondo común de amoníaco y participa en las reacciones anabólicas y catabólicas características de esta zona metabólica.

Por tener una estructura más especializada, el esqueleto de carbono no puede atribuirse a un fondo común de cetoácidos. La mayor parte de los alfa cetoácidos, producidos de los aminoácidos ingresa en el fondo común de carbohidratos, más o menos directamente; la parte menor guarda relación más íntima con los cuerpos cetónicos y los ácidos grasos.

A diferencia de lo que ocurre con los carbohidratos y lípidos, no hay una cadena o un ciclo de reacciones metabólicas que sigan todos los aminoácidos.

Los aminoácidos son necesarios para incorporarlos a las proteínas de la sangre y de los tejidos, para reemplazar a otros aminoácidos que ya existían, así como para formar nuevas proteínas.

Además, muchos de los aminoácidos son utilizados específicamente en la elaboración de biomoléculas tales como las hormonas, purinas, pirimidinas, porfirinas, enzimas, vitaminas y de otros constituyentes de la maquinaria metabólica.

METABOLISMO DE LOS AMINOACIDOS ESENCIALES.

LISINA

Aminoácido esencial no glucogénico y poco cetogénico. En el hombre su requerimiento diario es de 35 mg. por kilogramo de peso (12).

Es un aminoácido esencial para el crecimiento y el mantenimiento del equilibrio nitrogenado, y uno de los pocos aminoácidos que no participan en el fondo común de amoniaco; esto es: puede ceder su nitrógeno al fondo común, pero no extraerlo del mismo.

En el colágeno se encuentra además de la lisina, la hidroxilisina pero parece que la hidroxilación de la lisina se sucede al momento de incorporarse ésta en el colágeno, porque se ha observado que si se administra la hidroxilisina marcada, ésta no se encuentra después marcado en el colágeno (15).

Los cetoácidos de la lisina no originan reacciones de transaminación porque en el metabolismo de la lisina el grupo amino alfa es removido en el primer paso y el grupo amino forma casi inmediatamente un compuesto cíclico el cual no da lugar a reacciones de tipo reversible.

El átomo de nitrógeno eta-amino de la lisina es el sitio de unión del grupo prostético de biotina de muchas carboxilasas.

La hidroxilisina además de encontrarse en el colágeno, se encuentra en las enzimas tripsina y quimiotripsina.

METIONINA

Aminoácido esencial glucogénico, su requerimiento diario es de 40 mg. por kilogramo de peso (12).

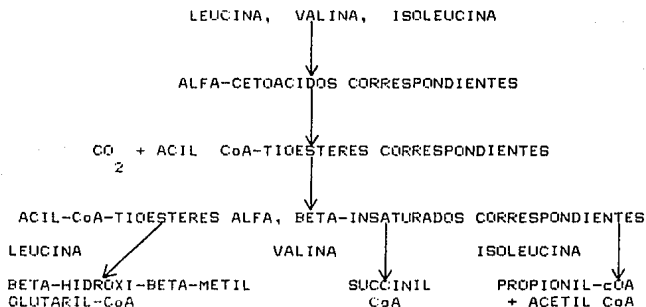
Este aminoácido constituye una de las principales fuentes de azufre orgánico para las actividades fisiológicas. Sirve como la mejor fuente de grupos metilo para la formación de otros compuestos tales como la colina, creatina, betaina y además como agente desintoxicante de las piridinas en la formación de ácido nicotínico.

Para que éste grupo metilo pueda ser donado la metionina necesita activarse, esta reacción se sucede en el hígado, en donde se encuentra una enzima activante que requiere la presencia de iones magnesio, también se necesita el concurso del "ATP", el cual libera pirofosfato y fosforo inorgánico y entonces la metionina se une al nucleósido de adenosina y el grupo metilo queda unido en enlace macroérgico que puede ser separado fácilmente para la formación de otros compuestos (15).

La metionina es un nucleósido que contiene adenosina, esto es, adenosina unida al azufre de la metionina (S-adenosil-metionina).

AMINOACIDOS RAMIFICADOS

Por sus semejanzas estructurales, el catabolismo de la L-leucina, L-valina y L-isoleucina, inicialmente implica las mismas reacciones. En último término esta vía común diverge y cada aminoácido sigue su propia vía única para los intermediarios anfibólicos. La naturaleza de estos productos finales anfibólicos (beta - hidroxí- beta-metilglutaril-CoA, succinil CoA y acetil CoA) determina que cada aminoácido sea glucogénico (Valina), cetogénico (Leucina) o ambos (Isoleucina) (13).



Es digno de notar que la descarboxilación oxidativa de los productos de desaminación de la valina, isoleucina y la leucina, respectivamente, es catalizada por una misma enzima, la "ACIDO ALFA-OXOISOVALERICO DESHIDROGENASA". Algunos individuos presentan genéticamente una falta de dicha enzima, lo

que conduce a la excreción de estos alfa oxoácidos por la orina. Este estado patológico tan poco frecuente, que produce un grave retraso mental en los niños afectados por el, se denomina "enfermedad urinaria del jarabe de Arce" por el característico olor que comunica a la orina estos oxoácidos (15).

TREONINA

Aminoácido esencial y glucogénico, su requerimiento diario es de 30 mg. por kilogramo de peso (12).

Este aminoácido es un constituyente de la mayor parte de las proteínas y es esencial para el mantenimiento y crecimiento de los animales, incluyendo el hombre.

El isomero D no es utilizado por el cuerpo, probablemente debido a la no convertibilidad del cetoácido en el aminoácido. No se ha descubierto otra función específica para la treonina que el ser un constituyente de las proteínas corporales. Es probable que la treonina este relacionada con la utilización de la grasa en el hígado. Al igual que la serina sirve como transportador de grupos fosfóricos en las fosfoproteínas (13).

FENILALANINA

Es un aminoácido esencial de la nutrición, mientras que la tirosina no lo es; si en la dieta hay cantidades adecuadas de fenilalanina, ésta es fácilmente convertible en tirosina, pero la reacción no es reversible. Ambos aminoácidos participan en las reacciones de transaminación, por tanto es de esperarse que sus cetoácidos ayuden al crecimiento y que los D-isómeros también pueden ser utilizados.

2.4 CROMATOGRAFIA

La cromatografía puede definirse como la técnica de separación de una mezcla de solutos, basándose esta separación en la diferente velocidad con que se mueve cada uno de los solutos a través de un medio poroso, arrastrados por un disolvente en movimiento (1).

Dependiendo de la técnica de separación se puede considerar a la cromatografía desde 3 puntos de vista: diagnóstico o cualitativo, preparativo y cuantitativo.

En el diagnóstico o cualitativo.- Se tiene por objeto determinar el número de componentes en una muestra sin aislarlos.

La placa preparativa.- Implica la separación de los componentes de la mezcla en cantidades razonables para poder ser aislados y estudiados.

La separación cuantitativa.- Determina la cantidad en que cada uno de ellos está presente en la muestra.

Todas las técnicas de cromatografía están basadas en el mismo principio: que implica un sistema móvil de algún tipo (líquido o gas) el cual está en equilibrio con una fase estacionaria, estas fases están designadas de tal manera que la mezcla por ser separada será distribuida entre las dos (25).

Cuando la fase estacionaria es un sólido y las fuerzas actuando entre ella y la mezcla es de naturaleza adsorptiva la técnica se llama cromatografía de adsorción. Cuando la fase estacionaria es un líquido retenido en algún tipo de soporte la cromatografía se considera como cromatografía de partición.

En general la cromatografía de adsorción implica una fase móvil no polar y se trabaja mejor cuando las sustancias que van a ser separadas no son muy polares. La mayor ventaja sobre la cromatografía por partición está en las grandes cantidades que pueden ser separadas y que no es necesario un control de temperatura.

La cromatografía por partición por otra parte, implica el uso de solventes polares y mezclas de compuestos polares tales como carbohidratos y aminoácidos. Estos dependen básicamente de los coeficientes de distribución de las sustancias en cuestión, las cuales son altamente sensitivas a la temperatura y otras condiciones.

La cromatografía es muy empleada para obtener y purificar antibióticos, medicinas y productos industriales. Se puede dividir en cromatografía en columna, en papel, en capa fina y en fase gaseosa (10).

CRROMATOGRAFIA EN CAPA FINA: También conocida como cromatografía de película delgada, de columna abierta, tiras cromatográficas.

tográficas o cromatoplaques. Es una técnica donde la separación ocurre sobre una capa delgada de adsorbente que está adherida a un soporte inerte, generalmente vidrio. Se pueden usar una variedad de adsorbentes, desde el gel de sílice o la alúmina hasta la celulosa en la cual la separación es similar a la del papel.

La cromatografía en capa fina puede emplearse para separar productos de una reacción. Si los métodos de separación empleados para aislar compuestos de una mezcla no dan los resultados aceptables la cromatografía en capa fina ofrece muchas posibilidades de éxito, pueden separarse hasta partes por billón (1), ofrece un método fácil, rápido y preciso, sobre todo se recomienda este método cuando se trabaja en microanálisis.

En trabajos de rutina la cromatografía en capa fina se usa en análisis clínicos en los cuales la rapidez de la técnica es un factor importante. La mayor limitación de la técnica es el error, con un factor de 3 a 5%.

ADSORBENTES: Existe una gran variedad de adsorbentes comerciales que pueden clasificarse de acuerdo con su actividad (la fuerza con que se adsorbe un compuesto dado), acidez o basicidad y tendencia a formar complejos específicos, entre otras características (19). En orden de actividad creciente, los adsorbentes ácidos incluyen el kieselguhr y el gel de

silice. Los adsorbentes básicos incluyen, en orden de actividad creciente, una mezcla de hidróxido de calcio con gel de silice, fosfato de calcio y óxido de aluminio no tratado. La actividad de muchos adsorbentes (por ejemplo, el gel de silice) puede incrementarse secándolo a altas temperaturas, (lo que hace que el agua adsorbida salga de los lugares activos del adsorbente). Los adsorbentes activos son mejores para separar compuestos no polares (que no se pueden adsorber con gran fuerza) y viceversa. La acidez o la basicidad se pueden modificar también mediante un tratamiento químico adecuado. Las sustancias ácidas no se separan bien en adsorbentes básicos, ni las sustancias básicas se separan bien en adsorbentes ácidos, debido a que este tipo de compuestos se adsorben con demasiada fuerza.

El gel de silice es el adsorbente que más se usa en cromatografía en capa fina para compuestos neutros o ácidos y el óxido de aluminio se emplea para compuestos básicos (19).

DISOLVENTES: Una regla general para ambas cromatografías es que mientras más polar es el disolvente, más rápidamente se desplaza un compuesto dado. Esto se debe a que el compuesto en estudio compite con el disolvente para ocupar los lugares activos del adsorbente y un disolvente polar tiene mayores ventajas en este sentido.

Según Pecsok (19) el disolvente óptimo para la cromato-

grafía en capa fina debe ser lo suficientemente polar para desplazar el compuesto entre el 50 y el 70% ($R_f = 0.5 - 0.7$) de su propia distancia de desplazamiento. Además, debe ser lo suficientemente volátil para que se evapore con rapidez de las placas, después que se hayan desarrollado.

GRUESO DE LA PELICULA: La capa del adsorbente puede ser de 0.25 a 2 mm. El grueso debe ser determinado de acuerdo con el tipo de análisis que se realiza, para trabajos de diagnóstico o cualitativos se prefieren las películas muy delgadas, a causa de que los reactivos reveladores actúan más rápidamente que si se empleara una gran cantidad de adsorbente. De lo contrario cuando el trabajo es preparativo se recomienda el uso de películas tan gruesa como sea posible, de esa manera en un solo cromatograma se separa un máximo de material.

Stahl (26), a través de sus estudios de R_f recomienda como máximo un grueso de 0.15 mm. de la película, el grueso máximo es determinado por la dificultad para sacar las placas sin que se agrieten y la migración desigual del punto de aplicación al frente del solvente. En las mayoría de los trabajos de cromatografía en capa fina se emplean películas de 0.25 mm. de grueso, el aplicador original Desaga-Stahl está graduado para elaborar placas de 0.250 a 2 mm.

APLICACION DE LA MUESTRA: Las muestras se aplican con un capilar sobre la línea base, dejando evaporar el disolven-

te. La evaporación del disolvente en la capa fina es tan rápida que no es necesario el empleo de un secador de pelo u otro aparato similar.

Puede aplicarse varias gotas sobre la misma mancha, dejando evaporar el disolvente entre cada aplicación. Edwards (11) menciona que el volumen de muestra suele ser de un microlitro.

Lo más importante es que la gota no sea demasiado grande (que no tenga un diámetro mayor de 1.5 mm.) (19). No obstante, se debe evitar tener demasiada muestra en la placa, un exceso producirá "colas" y el cromatograma no resultará bueno.

Si se desea medir exactamente la cantidad aplicada se emplean micropipetas o tubos capilares de precisión.

C A P I T U L O 3

MATERIALES Y METODOS

TRATAMIENTO DEL CAMARON: el camarón blanco (Penaeus vannamei BOONE), se colectó en los esteros de las siguientes localidades:

- a) Chaguín Chuiga municipio de Tecuala, Nayarit.
- b) Pescadero municipio de Rosamorada, Nayarit.
- c) Pimientillo municipio de Rosamorada, Nayarit.
- d) Mexcaltitán municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit.

El cual se encontró en estado juvenil y preadulto con un peso y una longitud promedio respectivamente de 11.4 grs. y 11.6 cm.

Posteriormente se separaron la cáscara y pulpa, aplicándose una pequeña cantidad de sal de cocina a ambas partes, exponiéndose a los rayos solares por un lapso de 27 hrs., todo esto con la finalidad de deshidratarlo y tener de ésta manera preparado el producto para la extracción de los aminoácidos a través de una hidrólisis ácida y una hidrólisis básica.

HIDROLIZADO: los enlaces peptídicos que unen a los aminoácidos en las proteína de la cáscara y pulpa del camarón pueden ser rotos por medio de hidrólisis ácida, hidrólisis

básica, o bien por reacciones enzimáticas (15).

En el presente trabajo, se llevo a cabo la hidrólisis ácida y básica, debido a que en la primera se obtienen todos los aminoácidos presentes en las proteínas de la cáscara y pulpa del camarón, a excepción del triptófano, el cual se obtiene con la hidrólisis básica.

Hidrólisis ácida.- Se pesaron 25 grs. de cáscara seca y 25 grs. de pulpa seca de camarón de cada uno se los 4 esteros anteriormente mencionados, haciendo un total de 8 muestras, las cuales se molieron en un mortero y después se colocaron en vasos de precipitados previamente identificados; a cada uno de estos vasos se les añadió 150 ml. de ácido clorhídrico 6N y se taparon con papel aluminio; posteriormente se metieron las muestras en una autoclave a una temperatura constante de 121°C y 15 lbs. de presión durante 12 hrs.

Transcurrido este tiempo se sacaron cada una de las muestras, y se filtraron para eliminar todo resto de materia orgánica, obteniéndose una sustancia densa de color oscura que contiene los aminoácidos.

Hidrólisis básica.- Se operó de igual manera que en la hidrólisis ácida, con la diferencia que en ésta operación se le añadió a cada muestra 150 ml. de hidróxido de sodio 2N, resultando un extracto denso de color amarillo claro.

SEPARACION DE AMINOACIDOS: la separación de aminoácidos, se efectuó por cromatografía bidimensional en capa fina, y se utilizaron cromatofolios comerciales de silicagel 60 F254 de 20 X 10 cm., con un espesor de capa de 0.2 mm., Los puntos de origen se marcaron a una distancia de 1.5 cm. del borde izquierdo inferior de la placa; además se trazaron dos líneas a una distancia de 1.5 cm. del borde de la placa una paralela a todo lo largo y otra perpendicular a lo ancho.

Esta operación se realizó con la finalidad de marcar los límites para el corrimiento de los solventes.

Sobre el cromatograma se aplicó en el punto de origen con un capilar, una muestra del extracto de aminoácidos obtenidos de la hidrólisis ácida o básica, dejando secar el punto de aplicación al medio ambiente.

El Cromatograma se corrió en el primer solvente, luego se secó, y se volvió a correr en otro sistema que corre perpendicularmente al primero. Primera dimensión: cloroformo/metanol/hidróxido de amonio 17% (2-2-1), segunda dimensión: fenol/agua 75/25 g/g.

Las placas se sacaron de la cámara separadora cuando el solvente llegó a una línea límite que previamente se trazó de un lado al otro de la placa, enseguida se dejó secar 10 minutos en la estufa a una temperatura de 70 C.

REVELADO DEL CROMATOGRAMA: los aminoácidos reaccionan con el reactivo de ninhidrina por calefacción, formando manchas color violeta (15). En el presente trabajo las placas cromatograficas se asperjarón con ninhidrina al 0.1% en alcohol isopropilico y se secaron por 20 minutos a una temperatura de 70 C.

ESTABILIZACION DE LOS COLORES DE LAS MANCHAS: las manchas producidas por aminoácidos se pueden estabilizar en la siguiente solución de aspersión: 1 ml. de solución acuosa saturada de nitrato de cobre se mezcla con 0.2 ml. de ácido nítrico al 10 % en 100 ml. de etanol al 96% . Se asperjan las manchas de ninhidrina cuando su intensidad de color está al máximo y se coloca a la placa en un recipiente cerrado en el que se encuentra un vaso de precipitado con amoniaco concentrado.

En la estabilización de las manchas no se tuvo el resultado esperado, debido a que las plácas quedaron manchadas con la solución de aspersión.

DETERMINACION DE " R_F " DE AMINOACIDOS PATRONES: se tomarón cantidades muy pequeñas de 7 patrones de aminoácidos, (lisina, arginina, histidina, treonina, valina, metionina y leucina) cada uno de los cuales se disolvió en 3 ml de agua destilada en su respectivo tubo de ensayo.

Se utilizaron 2 plácas cromatograficas de 20x20 cm., a

las cuáles se les trazó 2 líneas paralelas, cada una a 1.5 cm. del borde; en una de las líneas se marcaron los puntos de origen con una separación de 2 cm., y la segunda sirvió como límite para el corrimiento del solvente.

Sobre los 2 cromatogramas se aplicarán en los puntos de origen, con un capilar cada una de las muestras de los aminoácidos patrones anteriormente preparados y enseguida se dejaron secar al ambiente.

Inmediatamente los 2 cromatogramas se corrieron respectivamente en una dimensión: cloroformo/metanol/hidróxido de amonio al 17 % (2:2:1), y fenol/agua (75/25 grs/grs).

Se secarán y se revelarán con solución de ninhidrina apareciendo manchas de color violeta.

Se determinarán los Rf de cada una de las manchas (aminoácidos) que aparecieron en el revelado de los cromatogramas, de la siguiente manera:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la mancha}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}} = \frac{D.M}{D.S}$$

La distancia recorrida por la mancha se mide del centro de ésta, hasta su punto de aplicación.

Y la del solvente se mide del punto de aplicación de la mancha, hasta donde llegó el solvente.

En las tablas 8 y 9 se muestran los valores de " Rf " de aminoácidos patrones.

VALORES DE Rf DE AMINOACIDOS PATRONES

ELUYENTE; Cloroformo	(2)
Metanol	(2)
Hidróxido de amonio 17% (I)	

TECNICA ASCENDENTE

MIGRACION 17 cm.

APLICACION: Cualitativa

AMINOACIDOS	Rf
Lisina	0.14
Arginina	0.16
Histidina	0.82
Treonina	0.83
Valina	0.84
Metionina	0.82
Leucina	0.85
Fenilalanina*	0.83
Triptófano*	0.79
Isoleucina*	0.81

* Datos de la referencia (18).

TABLA 8. Valores de aminoácidos patrones.

VALORES DE Rf DE AMINOACIDOS PATRONES

Eluyente: Fenol (75 g.)
 Agua (25 g.)

TECNICAS ASCENDENTE

MIGRACION 17 cm.

APLICACION: Cualitativa.

AMINOACIDOS	Rf
Lisina	0.03
Arginina	0.07
Histidina	0.18
Treónina	0.25
Valina	0.46
Metiónina	0.51
Leucina	0.52
Fenilalanina*	0.56
Triptófano*	0.65
Isoleucina*	0.51

* Datos de la referencia (18).

TABLA 9. Valores de aminoácidos patrones.

CAPITULO 4

RESULTADOS Y DISCUSION

En el revelado de los cromatogramas, de los extractos de aminoácidos de la cáscara y pulpa de camarón, aparecieron manchas color violeta (aminoácidos) a las cuales se les determino su "Rf"; posteriormente se identificaron nueve aminoácidos (Lisina, Arginina, Histidina, Treónina, Valina, Metionina, Leucina, Fenilalanina y Tryptófano) en cada uno de los cromatogramas. Los primeros siete aminoácidos se identificaron por comparación de sus posiciones con la de los patrones y su " Rf " y los dos últimos por un " Rf ", bibliográfico (18).

En las tablas 10, 11, 12 y 13 se recopilan los resultados de los aminoácidos identificados en los cromatogramas de la pulpa y cáscara de camarón colectados en los esteros de: Pescadero, Chagüin, Pimientillo y Mexcaltitán respectivamente.

Asimismo las figuras 3, 4, 5 y 6 muestran los cromatogramas bidimensionales obtenidos, que permitieron la identificación de los aminoácidos esenciales en la cáscara y pulpa de camarón de las diferentes muestras.

PLACAS REVELADAS CON NINHIDRINA

	P U L P A	C A S C A R A
FASE ESTACIONARIA	SILICAGEL	SILICAGEL
FASE MOVIL	1a.DIMENSION C.M.H.A. 2a. DIMENSION F.A.	1a.DIMENSION C.M.H.A. 2a.DIMENSION F.A.
AMINOACIDOS:		
Lisina	+	+
Arginina	+	+
Histidina	+	+
Treonina	+	+
Valina	+	+
Metionina	+	+
Leucina	+	+
Fenilalanina	+	+
Triptófano	+	+
Isoleucina	-	-

TABLA 10. Resultados de los extractos de cáscara y pulpa de camarón del estero de Pescadero Nayarit.

C.M.H.A. = Cloroformo-Metanol-Hidróxido de amonio 17% (2-2-1)

F.A. = Fenol-Agua (75-25 grs-grs).

PLACAS REVELADAS CON NINHIDRINA

	P U L P A	C A S C A R A
FASE ESTACIONARIA	SILICAGEL	SILICAGEL
FASE MOVIL	1a.DIMENSION C.M.H.A.	1a.DIMENSION C.M.H.A.
	2a. DIMENSION F.A.	2a.DIMENSION F.A.
AMINOACIDOS:		
Lisina	+	+
Arginina	+	+
Histidina	+	+
Treonina	+	+
Valina	+	+
Metionina	+	+
Leucina	+	+
Fenilalanina	+	+
Triptófano	+	+
Isoleucina	-	-

Tabla II. Resultados de los extractos de cáscara y pulpa de camarón del estero de Chagüin Nayarit.

PLACAS REVELADAS CON NINHIDRINA

	P U L P A	C A S C A R A
FASE ESTACIONARIA	SILICAGEL	SILICAGEL
FASE MOVIL	1a.DIMENSION C.M.H.A.	1a.DIMENSION C.M.H.A.
	2a. DIMENSION F.A.	2a.DIMENSION F.A.
AMINOACIDOS:		
Lisina	+	+
Arginina	+	+
Histidina	+	+
Treonina	+	+
Valina	+	+
Metionina	+	+
Leucina	+	+
Fenilalanina	+	+
Triptófano	+	+
Isoleucina	-	-

Tabla 12. Resultados de los extractos de cáscara y pulpa de camarón del estero de Pimientillo Nayarit.

PLACAS REVELADAS CON NINHIDRINA

	P U L P A	C A S C A R A
FASE ESTACIONARIA	SILICAGEL	SILICAGEL
FASE MOVIL	1a.DIMENSION C.M.H.A.	1a.DIMENSION C.M.H.A.
	2a. DIMENSION F.A.	2a.DIMENSION F.A.
AMINOACIDOS:		
Lisina	+	+
Arginina	+	+
Histidina	+	+
Treonina	+	+
Valina	+	+
Metionina	+	+
Leucina	+	+
Fenilalanina	+	+
Triptófano	+	+
Isoleucina	-	-

Tabla 13. Resultados de los extractos de cáscara y pulpa de camarón del estero de Mexcaltitán Nayarit.

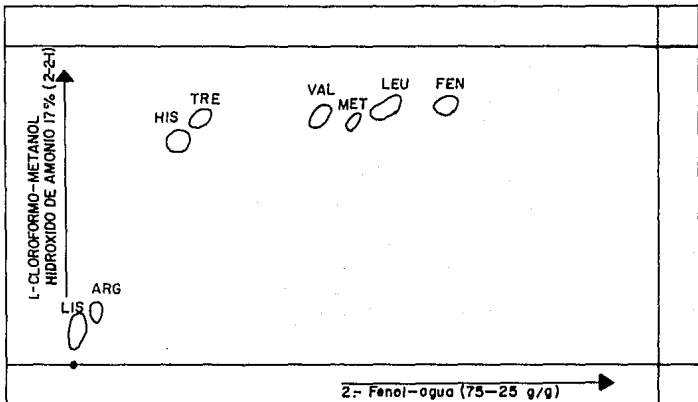


Fig. 3. IDENTIFICACION DE AMINOACIDOS ESENCIALES EN PULPA DE CAMARON (*Penaeus vannamei* BOONE) DEL ESTERO DE PESCADERO POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL.

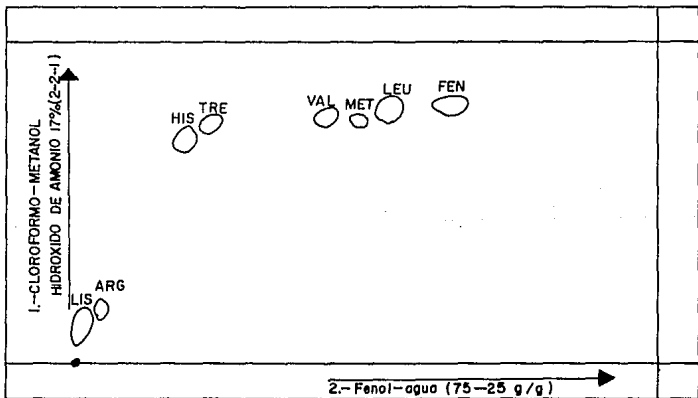


Fig. 4. IDENTIFICACION DE AMINOACIDOS ESENCIALES EN CASCARA DE CAMARON (*Penaeus vannamei* BOONE) DEL ESTERO DE PESCADERO POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL.

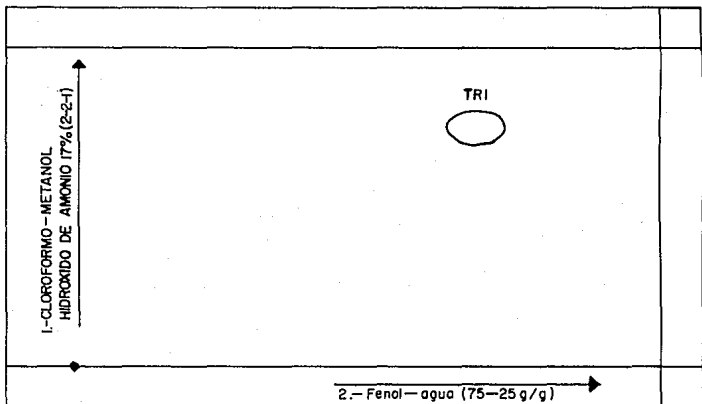


Fig. 5 IDENTIFICACION DE TRIPTOFANO EN PULPA DE CAMARON (*Penaeus vannamei* BOONE) DEL ESTERO DE CHAGUIN POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL.

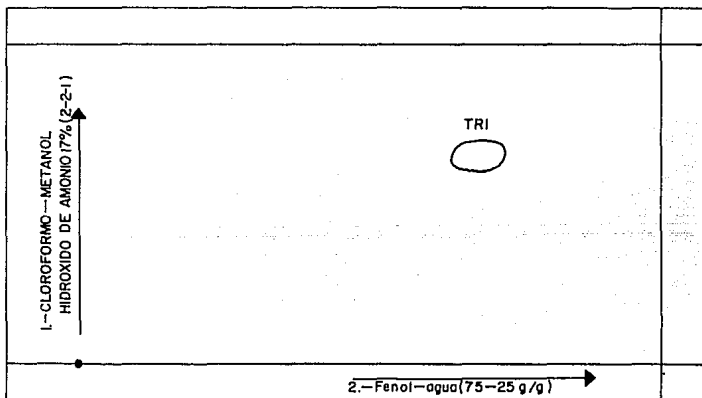


Fig. 6 IDENTIFICACION DE TRIPTOFANO EN LA CASCARA DE CAMARON (*Penaeus vannamei* BOONE) DEL ESTERO DE CHAGUIN POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL.

Los métodos para la obtención de aminoácidos a partir de proteínas son: hidrólisis ácida, hidrólisis básica y por reacciones enzimáticas (15). De estos tres métodos el enzimático requiere estudios preliminares para llevarse a cabo, en tanto que la hidrólisis ácida y básica son técnicas más sencillas de fácil aplicación como se mostró en el presente trabajo.

Para la identificación de los aminoácidos, la cromatografía bidimensional en capa fina ha demostrado ser uno de los mejores métodos de separación (15), debido a su sencillez, rapidez de desarrollo y economía, características que no reúne la cromatografía de gases. Esta técnica fue comprobada en la investigación efectuada como lo muestra los cromatogramas de las figs. (3,4,5 y 6). Cabe aclarar que en la identificación de la leucina hubo incertidumbre, ya que presentó " Rf " casi idéntico a la isoleucina, por lo que se procedió a experimentar con ambos aminoácidos, corriendo bidimensionalmente muestra y patrón en una misma placa, lo que nos permitió definir la presencia de dicho compuesto.

Para el corrimiento de los cromatogramas según Pecsok (19), el disolvente óptimo debe ser lo suficientemente polar para desplazar el compuesto entre el 50 y 70% ($R_f = 0.5$ y 0.7) de su propia distancia de desplazamiento. Además, debe ser lo suficientemente volátil para que se evapore con rapidez de las placas. Tratando de encontrar las características ideales

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

anteriormente mencionadas se probaron varios sistemas de solventes; butanol-ác. acético-agua (4-1-5), butanol-ác. acético-agua (8-2-2), butanol-ác. acético-agua (1-1-1), etanol al 96% hidróxido de amonio 34% (7-3), isopropanol-hidróxido de amonio-agua (6-3-1), formol-metanol-hidróxido de amonio 17% (2-2-1), formol-metanol-hidróxido de amonio (1-1-1), cloroformo-metanol-hidróxido de amonio (1-1-1), cloroformo-metanol-hidróxido de amonio 17% (2-2-1), fenol-agua (75-25 g-g) y fenol-agua (80-20 g-g), de los cuales, el que dio una mejor separación fue para la primera dimensión cloroformo-metanol-hidróxido de amonio 17% (2-2-1), y para el desarrollo de la segunda dimensión el fenol-agua (75-25 g-g).

Para el revelado de los cromatogramas se utilizó ninhidrina al 0.01% y 0.1% en alcohol isopropílico. Dando mejores resultados el de 0.1% ya que hubo una mejor reacción lo que se tradujo en una mejor resolución.

C A P I T U L O 5

C O N C L U S I O N E S

La obtención e identificación de aminoácidos esenciales, usando como materia prima la cáscara de camarón fue la base para desarrollar éste trabajo, el cual debe considerarse como un estudio preliminar, debiéndose completar con estudios de separación, determinación de estructura, análisis cuantitativo, y estudios socioeconómicos que permitan un aprovechamiento racional de este recurso.

El presente trabajo tuvo como finalidad demostrar la factibilidad de aprovechamiento de la cáscara del camarón blanco y a título de conclusión podemos enunciar lo siguiente:

1.- Se identificaron nueve aminoácidos esenciales: Lisina, Arginina, Histidina, Treonina, Valina, Metionina, Leucina, Fenilalanina y Triptófano.

2.- Con la identificación de los aminoácidos esenciales se comprueba el valor nutritivo del camarón y el potencial de aprovechamiento de la cáscara.

3.- A partir de un estudio comparativo de los cromatogramas de la cáscara y pulpa del camarón, tomando en cuenta el tamaño de las manchas, sobre todo en la cáscara muestran que el conteni-

do de aminoácidos esenciales es significativo. Esta observación está basada en que se aplicaron cantidades constantes de extracto a identificar tanto para la cáscara como para la pulpa.

4.- El método de cromatografía en capa fina resulto una buena técnica para la identificación cualitativa de los aminoácidos esenciales contenidos en la cáscara y pulpa de camarón.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Abbot, D. y Andrews, R. S. 1983; Introducción a la Cromatografía, Editorial Alhambra, España.
- 2.- Arredondo, F. J. L. (recopilador), 1986; Análisis Preliminar del estado del Cultivo de Camarón en México, Secretaría de Pesca.
- 3.- Barnes, R. D. 1977; Zoología de los Invertebrados 3a. Edición, Editorial Interamericana, México, D. F.
- 4.- Bhagavan, N. V. 1978; Bioquímica. Editorial Interamericana, México.
- 5.- Chapa, S. H. 1978; "Ensayo Bibliográfico de la Biología y el Cultivo de Camarones". Tesis Doctoral, Instituto Politécnico Nacional. México.
- 6.- Chapa, S. H. 1961; "Generalidades Sobre la Pesca y Biología de los Camarones del Género Penaeus". Dir. Gral. de Pesca e Inds. Conexas. Serie de Trabajos de Divulgación 1 (7) México.
- 7.- Conn Eric, E. y Stumpf p. K. 1980; Bioquímica Fundamental 3a. Edición. Editorial Limusa, México.

- 8.- Cook, H. L. and Lindner, M. 1970; Synopsis of Biological data on the brown shrimp Penaeus aztecus aztecus Perez Farfante. FAO Fish. Rep., (57) vol. 4.
- 9.- Cun, M. 1982; "Guia Práctica para la Cria de Camarones Comerciales (Penaeus) en Ecuador". Boletín Científico y Técnico, 5 (1).
- 10.- Dominguez, X. A. 1975; Experimentos de Química Orgánica Editorial Limusa, México.
- 11.- Edwards, D. I. 1975; Cromatografía Principios y técnicas. Editorial el Manual Moderno S. A., México.
- 12.- Farias, M. G. 1975; Manual de Bioquímica. 6a. Edición. Universidad Autonoma de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco.
- 13.- Harper, H. A. 1980; Manual de Química Fisiológica. 7a. Edición, Editorial el Manual Moderno, México.
- 14.- Laguna, J. 1978; Bioquímica. 2a. Edición. Editorial la prensa Medica Mexicana, México.
- 15.- Lehninger, A. L. 1984; Bioquímica. 2a. Edición. Editorial Omega S. A., Barcelona.
- 16.- Mertz, E. T. 1971; Bioquímica. Publicaciones Culturales S.A., México, D. F.
- 17.- Metzler, D. E. 1981; Bioquímica. Las Reacciones Químicas en las Células Vivas. Ediciones Omega S.A., Barcelona.

- 18.- Partida, J. L. y Martinez, G. M. S. 1977; "Caracterización de Aminoácidos Esenciales y Fofolipidos en Cáscara y Pulpa de Camarón. Tesis Para Obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco.
- 19.- Pecsok, R. L. 1973; Métodos Modernos de Análisis Químico Experimentos. Editorial Limusa, México.
- 20.- Rodriguez de la Cruz, M. C. 1981. Estado actual de la Pesqueria del Camarón en el Pacífico Mexicano. Ciencia Pesquera. Instituto Nacional de Pesca, México, I (I).
- 21.- Ruiz Dura, M.F. 1985; Recursos Pesqueros de las Costas de México. 2a. Edición. Editorial Limusa, México, D.F.
- 22.- Secretaria de Pesca, Delegación Nayarit, 1986; El Desarrollo Pesquero en la Entidad. Tepic, Nayarit.
- 23.- Secretaria de Pesca, Delegación Nayarit, Octubre 1980; Expediente Técnico, Programa Cultivo de Camarón, Tepic, Nay.
- 24.- Segundo Taller de Cultivo de Camarón. Octubre 1982; Centro de Investigaciones Cientificas y Tecnologicas de la Universidad de Sonora (CICTUS). Puerto Peñasco, Sonora, México.
- 25.- Skoog, D. A. y West, D. M. 1985; Análisis Instrumental. 2a. Edición. Editorial Interamericana, México, D. F.

- 26.- Stahl, E. 1965; Thin Layer Chromatography. 2a. Edición.
Academic Press Inc. Publishers New York y Londres.
- 27.- Thorpe, W. V., Bray, H. G. y James, S.P. 1982; Bioquímica
Editorial C.E.C.S.A., México.
- 28.- Zurita, R. M. N. y Jimenez, C. J. M. 1985; La Explotación
Irracional de los Recursos Pesqueros del Municipio de
Rosamorada, Nayarit. Tesis para obtener el Título de
Licenciado en Economía, Universidad Autónoma de Nayarit.