

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISION ESTUDIOS DE POST-GRADO



**VALOR NUTRICIO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL
DE BOVINO E IDENTIFICACION DE SUS AMINOACIDOS**

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE**

**MAESTRIA EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

P R E S E N T A

Q.F.B. MARIA ESTELA GONZALEZ SAENZ

MONTERREY, N. L.

MARZO DE 1998

1998

TM
SF98
.A38
G6
c.1

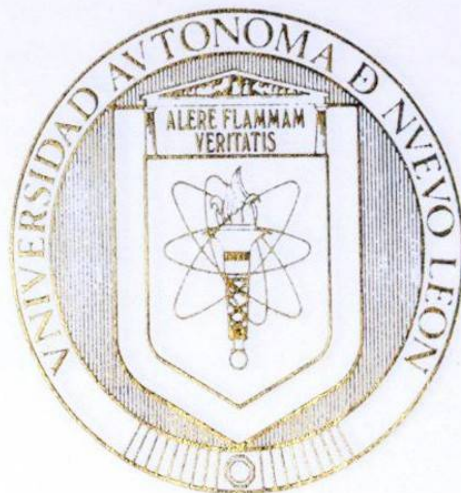
VALOR NUTRICION DEL PIEL SUBPRACCIONES DE PIEL
DE BOVINO, E IDENTIFICACION DE SUS AMINOACIDIOS



1080087117

9474

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VALOR NUTRICIO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL DE BOVINO
E IDENTIFICACIÓN DE SUS AMINOÁCIDOS

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

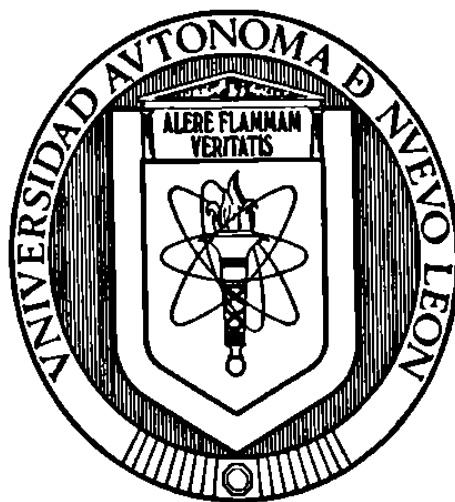
Presenta

Q.F.B. MARÍA ESTELA GONZÁLEZ SÁENZ

MONTERREY, N.L.

MARZO DE 1998

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**VALOR NUTRICIO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL DE BOVINO,
E IDENTIFICACIÓN DE SUS AMINOÁCIDOS**

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRIA EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

Presenta

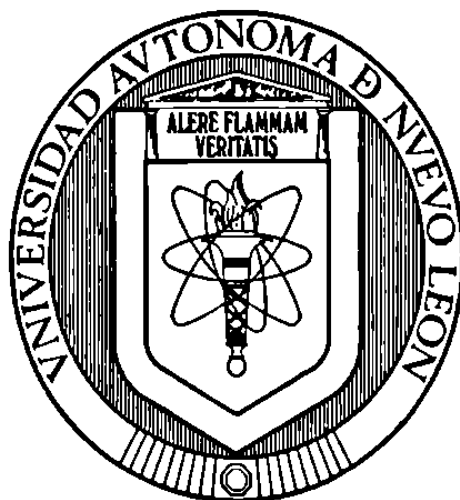
Q.F.B. MARÍA ESTELA GONZÁLEZ SÁENZ

MONTERREY, N.L

MARZO DE 1998

TM
SF98
.A38
56

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**VALOR NUTRICIO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL DE BOVINO,
E IDENTIFICACIÓN DE SUS AMINOÁCIDOS**

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRIA EN CIENCIAS
ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

Presenta

Q.F.B. MARÍA ESTELA GONZÁLEZ SÁENZ

Director de Tesis

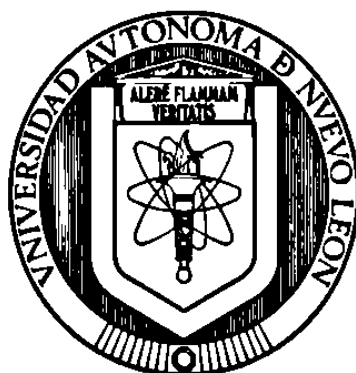
DRA. MARÍA GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN

MONTERREY, N.L

MARZO DE 1998



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**VALOR NUTRICO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL DE BOVINO,
E IDENTIFICACIÓN DE SUS AMINOÁCIDOS**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN
CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

Presenta

Q.F.B. MARÍA ESTELA GONZÁLEZ SÁENZ

COMISIÓN DE TESIS

APROBADA

DRA. MARÍA GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN

Presidente

DR. CARLOS HERNÁNDEZ LUNA

Secretario

DRA. MARIA JULIA VERDE STAR

Vocal

DR. ERASMO GUTIERREZ ORNELAS

Vocal

M.C. CARLOS LEONEL GARCÍA DÍAZ

Vocal

M. Guadalupe Alanís Guzmán
Carlos Hernández Luna
Maria Julia Verde Star
Erasm Gutierrez Ornelas
Carlos Leonel Garcia Diaz

VALOR NUTRICIO DE SUBPRODUCTOS DE PIEL DE BOVINO, E IDENTIFICACIÓN DE SUS AMINOÁCIDOS

Este trabajo se realizo en:

- Laboratorio de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en San Nicolás de los Garza, N.L.
- Unidad Metabólica y Laboratorio de Análisis Bromatológicos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en Marín, N.L.
- Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en Monterrey, N.L.

CONTENIDO

	Pag.
Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Reconocimientos	iii
Resumen	iv
Abstract	vi
Índice de Tablas	vii
Índice de Figuras y Gráficas	ix
I.- Introducción	1
II.- Hipótesis de trabajo	5
III.- Objetivos	5
3.1 Objetivo General	
3.2 Objetivo Específicos	
IV.- Originalidad	6
V.- Antecedentes	7
5.1 Uso potencial en la alimentación de ganado	7
5.1.1 Datos históricos	7
5.1.2 Utilización actual de la dermis de bovino	8
5.1.3 Exigencias nutricionales del ganado bovino	9
5.2 Digestión de los rumiantes	12
5.3 Uso potencial de la dermis de bovino como materia prima para obtener aminoácidos	13
5.3.1 Composición química del colágeno	13
5.3.2 Métodos de hidrólisis ácida de proteínas	14
5.3.3 Métodos para determinar aminoácidos	15
5.3.4 Métodos para extracción de aminoácidos	18
5.4 Comercialización de aminoácidos en México	21
5.5 Principales usos y mercadeo de aminoácidos	23
VI.- Materiales y Métodos	
6.1 Materiales	

6.1.1. Origen de la Muestra	25
6.2 Métodos	
6.2.1 Preparación de la Muestra	25
6.2.2 Análisis Químico Proximal	26
6.2.3 Digestibilidad de la Proteína	
6.2.3.1 Digestibilidad "In vitro"	26
6.2.3.1.1 Digestibilidad enzimática	26
6.2.3.1.2 Digestibilidad de la materia orgánica con líquido ruminal	27
6.2.3.2 Digestibilidad "In Situ"	
6.2.3.2.1 Proteína de Sobrepaso	27
6.2.3.2.2 Tasa de Digestión	29
6.2.4 Elaboración de la Dieta	29
6.2.5 Hidrólisis ácida de la Proteína	31
6.2.5.1 Preparación de la muestra	31
6.2.5.2 Hidrólisis de la muestra	31
6.2.5.3 Determinación del grado de hidrólisis	32
6.2.6 Preparación del hidrolizado para el análisis de aminoácidos	33
6.2.7 Análisis de los aminoácidos por HPLC	
6.2.7.1 Derivatización	34
6.2.7.2 Separación	35
6.2.7.3 Detección	35
6.2.8 Análisis Estadístico	36
6.2.9 Determinación de Triptofano	37
6.2.10 Determinación de Lisina Reactiva	38

VII.- Resultados y Discusion

7.1 Características de la harina obtenida	40
7.2 Análisis químico proximal del subproducto de tenería	40
7.3 Digestibilidad de la proteína	42
7.3.1 Digestibilidad "In Vitro"	43
7.3.2 Digestibilidad "In Situ"	43
7.3.2.1 Proteína Sobrepasante	45
7.3.2.2 Degradabilidad Ruminal	46
7.3.2.3 Comparación de Digestibilidad "In Situ"	46
7.4 Elaboración de la dieta	49
7.5 Análisis químico proximal y digestibilidad de las dietas	50
7.6 Hidrólisis ácida de la proteína	51
7.7 Análisis de aminoácidos por HPLC1.	54
7.7.1 Tratamiento No. 1	56
7.7.2 Tratamiento No. 2	58
7.7.3 Tratamiento No. 3	60
7.7.4 Tratamiento No. 4	63
7.7.5 Tratamiento No. 5	65
7.7.6 Tratamiento No. 6	67
7.7.7 Tratamiento No. 7	69

7.8	Análisis estadístico de los aminoácidos por tratamiento	71
7.8.1	Ácido Aspártico	72
7.8.2	Ácido Glutámico	74
7.8.3	Serina	76
7.8.4	Glicina	78
7.8.5	Arginina	80
7.8.6	Treonina	82
7.8.7	Alanina	84
7.8.8	Metionina	86
7.8.9	Valina	88
7.8.10	Fenilalanina	90
7.8.11	Isoleucina	92
7.8.12	Leucina	94
7.8.13	Porcentaje de recuperación general de aminoácidos por tratamiento	96
7.9	Determinación de Triptofano	98
7.10	Determinación de Lisina Reactiva	99
VIII.-	Conclusiones	100
IX.-	Bibliografía	102

DEDICATORIAS

A DIOS:

Por estar conmigo siempre siendo mi guía, la luz de mi vida y dejarme hacer realidad una de mis metas.

A MIS PADRES:

Con todo mi amor y gratitud por su ejemplo diario enseñándome a luchar por mis sueños y nunca darme por vencida, papá, mamá los amo.

A FELIPE:

Mi esposo, a quién admiro y respeto, gracias por tu amor, apoyo y sobretodo por tu comprensión y paciencia, te amo siempre.

A MIS HIJOS:

Felipe Josías, Roberto Eliú y Estela Abigail, mis tres tesoros, las tres estrellas en mi cielo, que son para mi vida el aliento a superarme, con profundo amor

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ma. Guadalupe Alanís Guzmán, por su invaluable ayuda, sus conocimientos compartidos, por sus palabras de aliento y consejos pero sobre todo por su extraordinario apoyo, con profundo agradecimiento mil gracias maestra.

Al M.C. Carlos L. García Díaz por su ayuda incondicional y su apoyo, gracias maestro.

Al Dr. Erasmo Gutiérrez Ornelas por su desinteresada ayuda y apoyo, con máximo agradecimiento.

A la M.E. Ma. Guadalupe Martínez de Dávila, Directora de la Facultad de Enfermería de U.A.N.L. por su apoyo y estímulo.

A los muchachos del Laboratorio de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L.: Cristy, Adán, Lalo, Margil y Mayra, gracias por la maravillosa ayuda recibida con amor.

Al M.C. Roberto Mercado Hernández y al Lic. Martha Santoyo S. por su ayuda en los datos estadísticos, mil gracias.

A todos mis maestros de maestría en especial al Dr. Baltasar Cuevas Hernández por transmitir sus conocimientos.

A mis compañeros de maestría, por lo vivido y compartido juntos, con cariño.

A todas las personas que de alguna manera me ayudaron y que por error haya omitido mil gracias.

RECONOCIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN
MI ALMA MATER EN DONDE RECIBÍ, RECIBO Y ESTOY SEGURA
QUE SEGUIRE RECIBIENDO LOS CONOCIMIENTOS PARA MI
CRECIMIENTO INTELECTUAL Y HUMANO, Y POR SU APOYO
ECONÓMICO RECIBIDO PARA REALIZAR PARTE DE ESTA TESIS.
ORGULLOSAMENTE UNIVERSITARIA.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA
U.A.N.L.

EN ESPECIAL AL LABORATORIO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS,
QUE ME PROPORCIONO LA INFRAESTRUCTURA PARA LLEVAR A
CABO GRAN PARTE DE MI INVESTIGACIÓN.

A LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA U.A.N.L.

A LA UNIDAD METABOLICA Y AL LABORATORIO DE ANÁLISIS
BROMATOLÓGICOS, DONDE REALICE LA DIGESTIBILIDAD "IN
SITU".

A LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA U.A.N.L.

AL LABORATORIO DE QUÍMICA ANALITICA DONDE REALICE LA
CROMATOGRAFÍA DE AMINOÁCIDOS.

RESUMEN

Los desechos provenientes de los primeros pasos, de la manufactura de la piel de bovino, son ricos en nutrimentos proteicos. En México, estos subproductos y desechos de la industria de la tenería se usan para la elaboración de la gelatina, y en otros casos se tiran o son desechados en lugares clandestinos como basura, desperdiándose de esta manera y no explotándose adecuadamente. La dermis de bovino es rica en colágeno, proteína a la cual se le pueden dar otros usos potenciales, como: a). aditivos para enriquecer la alimentación del ganado, b). materia prima para obtener productos no alimenticios como fertilizantes, adhesivos y productos para la industria farmacéutica y cosmetológica. Se trabajó con los desechos provenientes de los primeros pasos, de una industria de tenería de San Nicolás de los Garza, N.L. Los desechos llamados carnazas fueron lavados en agua potable, escurridos, secados en estufa de aire a 65 °C y molidos en un molino Willey a tamaño de partícula de 2mm, obteniéndose una harina cuya densidad fue de 0.3604 g/mL y cuya composición química según la metodología de la AOAC 1990 fue: humedad 5.35%, ceniza 8.04%, grasa cruda 8.07%, proteína (N x 6.25) 77.61%, extracto libre de nitrógeno 0.93% y fibra 0.00%, la proteína presenta una digestibilidad "in vitro" con pepsina de 98.5%, siendo superior a la de un hidrolizado de pluma (87%) y a la de harina de sangre (91%). La digestibilidad "in vitro" con liquido ruminal según el método de Tilley y Terry (1963), tuvo un valor de ~~80.49~~ % de digestibilidad de materia orgánica, la prueba de digestibilidad "In Situ" se evaluó usando la técnica de Wilkerson (1995), usando un bovino fistulado adulto macho de 5 años de la raza Holstein, determinando la proteína sobrepasante digestible sometiéndolo a 2 dietas diferentes; la primera dieta contenía 50% de concentrados y 50% de forraje de sorgo, y la segunda dieta 100% de forraje de sorgo ambas dietas fueron durante una semana antes de correr el subproducto de tenería, se encontró que la proteína sobrepasante digestible fue de 26.34% y de 28.07% respectivamente, y la tasa de digestión según ORSKOV (1982) se encontró de 6.9%/h y de 3.5%/h. Se elaboró una formulación para ganado lechero usando como uno de los ingredientes el subproducto de tenería. En lo que se refiere

al análisis de aminoácidos se realizaron hidrólisis ácidas con HCl 6N, variando tiempos de exposición y temperaturas, 110°C x 22,24,26 h y 145°C x 4 h, y con pre-oxidación con peróxido de hidrógeno para determinar cisteína y metionina y con 1% de fenol para recuperar aminoácidos más lábiles como tirosina, histidina, arginina y fenilalanina, la determinación de aminoácidos se hizo por HPLC derivatizando en precolumna con OPA/2ME y usando una columna de fase reversa ODS C18 de dimensiones de 150mm x 4.6 mm de diámetro interno y con un gradiente de partícula de 5 µm, según el tratamiento se encontraron en mayor cantidad gli 15.56, arg 10.39, glu 11.38, ser 5.65, thr 2.91, ala 7.78, met 2.09, val 3.41, Phe 6.12, leu 3.39 e isoleu 3.70 todos en g/100 g de muestra a 145°C x 4 h, pero con mayor recuperación de Gli 39.57 g/100 g de muestra a 110 °C x 24h, además se determinaron por métodos colorimétricos Lisina reactiva por el método de Hurrell (1979) encontrándose 0.006 g /100 g de Muestra y de triptofano por el método de Villegas (1975) encontrándose 0.069 g DL Triptofano/100 g de muestra. Evaluándose los resultados obtenidos se puede recomendar la harina de subproducto de tenería en la alimentación de ganado bovino por ser de bajo costo tecnológico y su relación costo-beneficio la hace factible. Y en cuanto a la utilización de este subproducto de tenería como fuente de hidrolizados y/o aminoácidos para ser usadas en la industria cosmética, farmacología, alimenticia y en esta misma línea el uso de hidrolizados como fuente de aminoácidos para medios de cultivo en procesos biotecnológicos, se recomendaría evaluar la factibilidad económica de utilización debido a su alto contenido de glicina, arginina y ac.aspartico.

ABSTRACT

The wastes resulting from the first steps of the manufacture of the beef skin, are rich in proteic nutrients. In Mexico, these byproducts and wastes from the tannery industry are used in the production of gelatine and in other cases they are disposed of or thrown away as garbage; wasting them and not using them in an adequate form. The Beef dermis contains a large amount of calagen, a protein which could have other potential uses, such as: a) aditives in cattle feed, b) raw materials to obtain non-food products like fertilizers, adhesives and products for the pharmaceutical and cosmetic industries. Work was carried out on waste materials coming from the first steps from a tannery industry in San Nicolas de los Garza, N. L. The wastes, called hide were washed in potable water, drained, air dried in a stove at 65°C and ground in a Willey Mill to a particle size of 2mm, obtaining a flour with a density of 0.3604 g/mL, and a chemical makeup, according to the 1990 AOAC's methodology of: humidity 5.35%, ash 8.04%, fat 8.07%, protein (Nx 6.25) 77.61%, nitrogen-free extract 0.93%, and fiber 0.00%; the protein presents an "in vitro" digestibility with pepsin of 98.5%, being superior to that of a hydrolized feather (87%), and from that of a blood flour (91%). The "in vitro" digestibility with ruminal liquid according to Tilley and Terry's method, had a value of digestibility of organic material of 80.49%, the digestibility's proof "In situ" was evaluated using Wilkerson's technique (1995) using a five-year-old fistulous adult male bovine, Holstein's breed, determining the ruminal escape protein, submitting it to two different diets. The first diet contained 50% of concentrates and 50% of sorghum forage. The second diet contained 100% of sorghum forage. Both diets were during one week before running the tannery's subproduct. It was found that the escape protein was of 26.34% and of 28.07% respectively, and the digestion's rate according to ORSKOV (1982) was of 6.9% /h and of 3.5% /h. A formulation was elaborated for the dairy cattle using the tannery subproduct as one of the ingredients. Referring to the aminoacid's analysis, there was acid hydrolysis with HCl 6N, varying temperature and exposition times, 110°C x 22, 24, 26 h and 145°C x 4 h, and with pre-oxidation with performic acid to determine cysteine and methionine; and with 1% phenol to recover labiler aminoacids such as tirosine, histidine, arginine, and phenilanaline. The aminoacids resolution was carried out by HPLC deriving in precolumn with OPA/2ME and using a reverse phase column ODS C₁₈ with the next measurements: 150mm x 4.6mm of internal diameter and with a gradient of particle of 5mm; according to the treatment. The following: Gli 15.56, Arg 10.39, Glu 11.38, Ser 5.65, Thr 2.91, Ala 7.78, Met 2.09, Val 3.41, Phe 6.12, Leu 3.39 and Ile 3.70 were found in greater quantity, all in a sample of g/100 to 145°C x 4 h, but with a greater recovery of Gli 39.57 g/100 of sample to 110°C x 24 h, furthermore , there were determined by colorimetc methods reactive Lisine by the Hurrel's method (1979), finding 0.006 g/100 g of sample and Tryptophane by the Villega's method (1975), finding 0.069g DL Tryptophane/100g of sample. Once the obtained results are evaluated, a recomendation can be done: the flour of the tannery's subproduct in the bovines' nourishment, due to its low technological price plus its relation price-benefit makes it feasible Speaking of the use of these tannery subproducts as a source of hydrolyzates and/or aminoacids to be used in the cosmetic, pharmaceutical, feeding industries, and in this same line the use of hydrolyzate as a source of aminoacids for growing needs in biotchnological processes, it would be recomendado to evaluate the economic feasibilty of usage due to Its high contents of Glicine, Arginine and Aspartic Acid.

ÍNDICE DE TABLAS

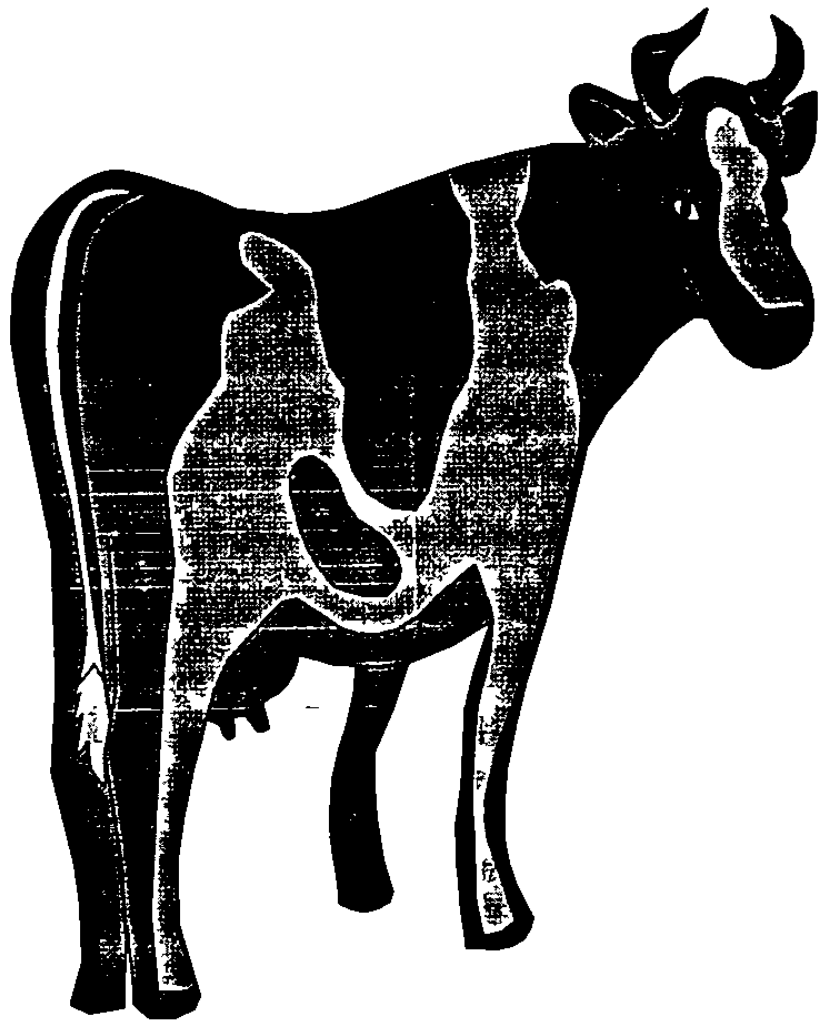
	Pág.	
Tabla No. 1	Porcentaje de proteína de concentrados básicos para bovinos	11
Tabla No. 2	Tipos de colágeno	13
Tabla No. 3	Características de reactivos de derivatización	17
Tabla No. 4	Situación actual y futura de la producción de aminoácidos en México	23
Tabla No. 5	Principales usos de los aminoácidos	24
Tabla No. 6	Análisis químico proximal del subproducto de tenería	40
Tabla No. 7	Comparación nutricional de harinas de subproductos	41
Tabla No. 8	Digestibilidad "In Vitro"	43
Tabla No. 9	Digestibilidad "In Situ" corrida No. 1	44
Tabla No. 10	Digestibilidad "In Situ" corrida No. 2	45
Tabla No. 11	Comparación de la digestibilidad "In Situ"	46
Tabla No. 12	Análisis proximal y digestibilidad de las dietas	50
Tabla No. 13	Concentración de proteína resistente por tratamiento de hidrólisis	52
Tabla No. 14	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 1	57
Tabla No. 15	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 2	58
Tabla No. 16	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 3	60
Tabla No. 17	Composición de aminoácidos en piel de bovino	62
Tabla No. 18	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 4	63
Tabla No. 19	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 5	65
Tabla No. 20	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 6	67
Tabla No. 21	Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 7	69

Tabla No. 22	Concentración media de aminoácidos por tratamiento	71
Tabla No. 23	Concentración de ácido aspártico obtenida y la comparación entre sus tratamientos	73
Tabla No. 24	Concentración de ácido glutámico obtenida y la comparación entre sus tratamientos	75
Tabla No. 25	Concentración de serina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	77
Tabla No. 26	Concentración de glicina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	79
Tabla No. 27	Concentración de arginina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	81
Tabla No. 28	Concentración de treonina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	83
Tabla No. 29	Concentración de alanina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	85
Tabla No. 30	Concentración de metionina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	87
Tabla No. 31	Concentración de valina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	89
Tabla No. 32	Concentración de fenilalanina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	91
Tabla No. 33	Concentración de isoleucina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	93
Tabla No. 34	Concentración de leucina obtenida y la comparación entre sus tratamientos	95
Tabla No. 35	Porcentaje de recuperación total de aminoácidos de cada tratamiento y su comparación	97
Tabla No. 36	Número de tratamiento de hidrólisis a usar para mayor rendimiento del aminoácido	98
Tabla No. 37	Concentración de triptofano en el subproducto de tenería	99
Tabla No. 38	Concentración de lisina reactiva en el subproducto de tenería	100

ÍNDICE DE FIGURA Y GRAFICAS

	Página
Figura No. 1 Reacción de aminoácidos con el reactivo OPA/2ME	16
Gráfica No. 1 Concentración de proteína resistente en cada tratamiento	53
Gráfica No. 2 Cromatograma correspondiente a los estándares de aminoácidos	55
Gráfica No. 3 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 1	56
Gráfica No. 4 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 1	57
Gráfica No. 5 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 2	59
Gráfica No. 6 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 2	59
Gráfica No. 7 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 3	61
Gráfica No. 8 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 3	61
Gráfica No. 9 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 4	64
Gráfica No. 10 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 4	64
Gráfica No. 11 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 5	66
Gráfica No. 12 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 5	66
Gráfica No. 13 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 6	68
Gráfica No. 14 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 6	68
Gráfica No. 15 Concentración media de aminoácidos en el tratamiento No. 7	70
Gráfica No. 16 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No. 7	70
Gráfica No. 17 Concentración de ácido aspártico por tratamiento	73
Gráfica No. 18 Concentración de ácido glutámico por tratamiento	75
Gráfica No. 19 Concentración de serina por tratamiento	77
Gráfica No. 20 Concentración de glicina por tratamiento	79
Gráfica No. 21 Concentración de arginina por tratamiento	81
Gráfica No. 22 Concentración de treonina por tratamiento	83

Gráfica No. 23	Concentración de alanina por tratamiento	85
Gráfica No. 24	Concentración de metionina por tratamiento	87
Gráfica No. 25	Concentración de valina por tratamiento	89
Gráfica No. 26	Concentración de fenilalanina por tratamiento	91
Gráfica No. 27	Concentración de isoleucina por tratamiento	93
Gráfica No. 28	Concentración de leucina por tratamiento	95
Gráfica No. 29	Porcentaje de recuperación total de aminoácidos por tratamiento	97



**Dio naturaleza a cada uno de los animales
admirable industria para su conservación**

CAYO PLLINIO SEGUNDO