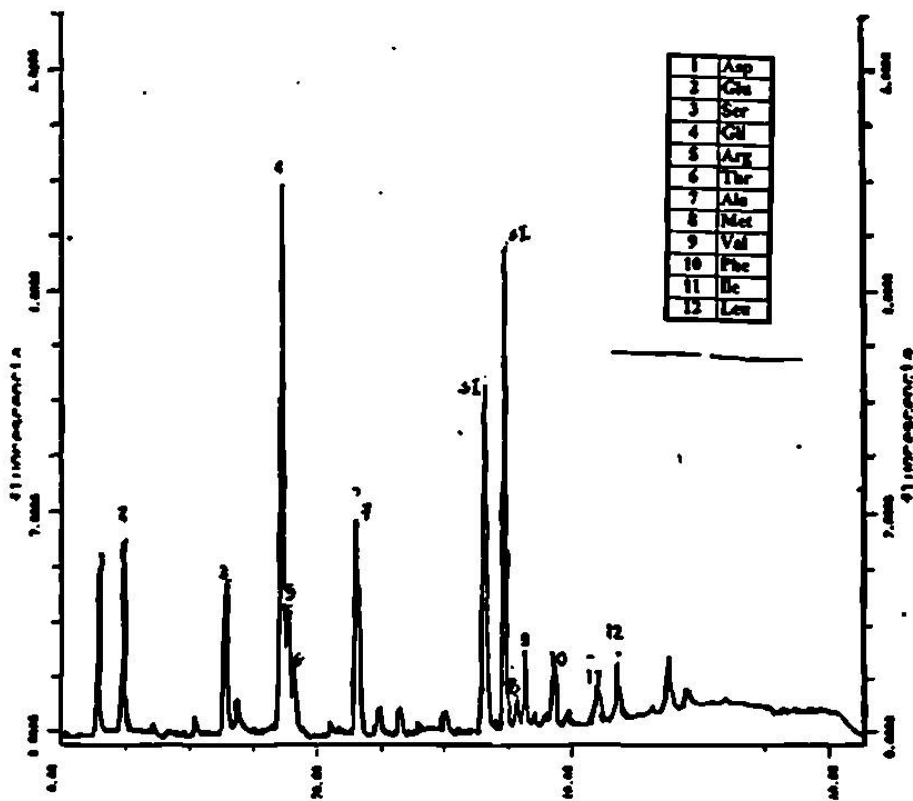


Gráfica No. 13 Concentración media de aminoácidos en el Tratamiento No. 6 145°C x 04 h + 1% Fenol



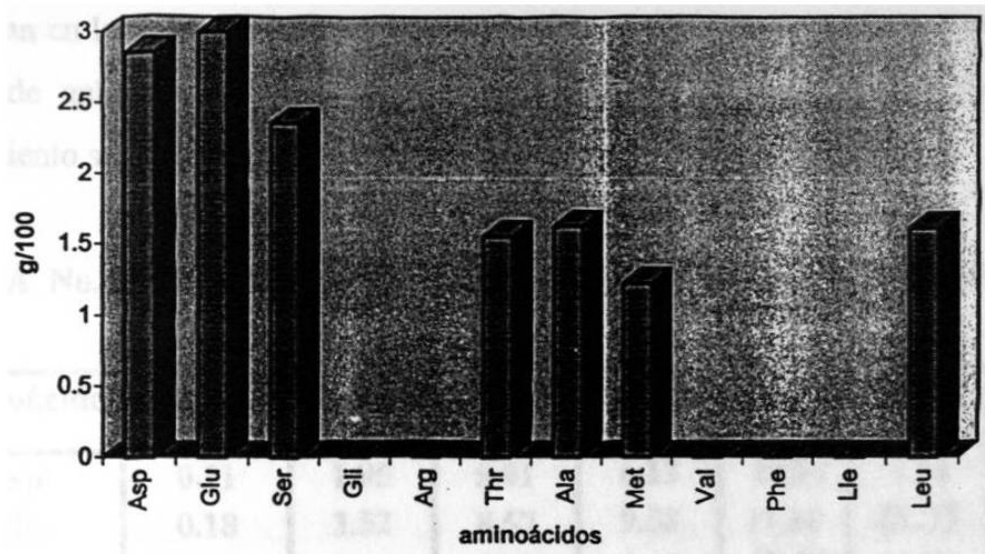
Gráfica No. 14 Cromatograma del análisis de aminoácidos en el tratamiento 6

7.7.7 TRATAMIENTO No. 7: 145 °C X 4 h, PREOXIDACIÓN CON ÁCIDO PERFÓRMICO

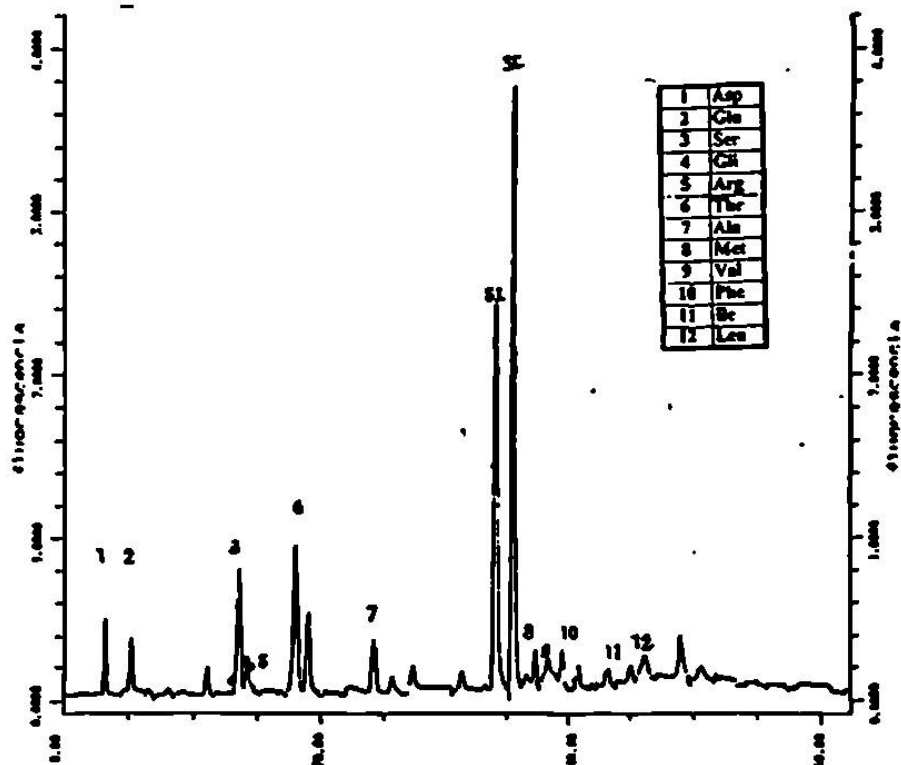
El método mas utilizado para hidrolizar una proteína y determinar el score de sus aminoácidos, destruye a la cistina y metionina (McDonald, J., 1985), así que estos aminoácidos tienen que ser determinados bajo otras condiciones. La cisteína y la metionina son oxidadas con ácido perfórmico, para determinarlas como ácido cistéico y metionina sulfona, en este tratamiento se observo la destrucción de 5 aminoácidos que no pudieron ser resueltos en la cromatografía Gli, Arg, Val, Phe, Lle y en los demás se observaron perdidas, 40% para el Ácido Aspártico, 75% para el ácido Glutámico, 59% para la Serina, y de 82% para la Alanina. Metionina se obtuvo 1.22 g/100. Ver tabla No. 21 y Gráfica No. 15 y 16. Lo que se observo en este tratamiento, que es muy drástico para la mayoría de los aminoácidos y el por ciento de recuperación fue muy bajo 14.20%, de tal manera que este tratamiento no se podría seleccionar para recuperar ningún aminoácido a excepción de la Metionina.

TABLA No. 21 Concentración de aminoácidos en el tratamiento No. 7

TRATAMIENTO No. 7: 110 °C x 24 h						
PRE OX./ PERFORMICO			g/100			
Aminoácido	R1	R2	R3	— X	+D.S.	C.V.
Asp	2.50	3.20	n.d.	2.85	0.49	0.17
Glu	2.40	3.60	n.d.	3.00	0.85	0.28
Ser	2.20	2.50	n.d.	2.35	0.21	0.09
Gli	n.r.	n.r.	n.d.	n.r.	0.00	0.00
Arg	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	0.00	0.00
Thr	1.90	1.20	n.d.	1.55	0.49	0.32
Ala	1.94	1.30	n.d.	1.62	0.45	0.28
Met	1.32	1.12	n.d.	1.22	0.14	0.12
Val	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.00	0.00
Phe	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.00	0.00
Lle	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.00	0.00
Leu	2.10	1.11	n.d.	1.61	0.70	0.44
%REC	14.36	14.03	0.00	14.20	0.23	0.02



Gráfica No. 15 Concentración media de aminoácidos en el Tratamiento No. 7
145°C x 04 h, con preoxidación



Gráfica No. 16 Cromatograma del análisis de aminoácidos del tratamiento No.7

Las concentraciones medias de cada aminoácido y el por ciento de recuperación obtenido, según el tratamiento de hidrólisis aplicado al subproducto de tenería, se muestran en la Tabla No.22, esta nos sirve de comparación para saber que tratamiento se puede aplicar para hidrolizar al subproducto de tenería, y así obtener mayor rendimiento según el aminoácido deseado.

TABLA No. 22 Concentración Media de Aminoácidos por Tratamientos

g/100

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Asp	0.11	1.95	5.01	6.13	7.67	7.54	2.85
Glu	0.18	3.52	8.57	9.58	11.38	11.77	3.00
Ser	0.00	1.16	3.50	2.48	5.65	4.68	2.35
Gli	0.25	10.29	39.57	8.10	15.56	18.53	0.00
Arg	0.09	4.43	8.13	12.31	10.39	10.43	0.00
Thr	0.00	1.05	3.48	2.42	2.91	2.65	1.55
Ala	0.13	3.66	7.84	7.04	7.78	8.82	1.62
Met	0.00	0.37	1.14	2.29	2.09	1.93	1.22
Val	0.00	0.91	2.39	3.10	5.41	3.24	0.00
Phe	0.04	1.04	3.46	6.35	6.12	5.34	0.00
Lle	0.05	1.00	2.35	3.44	5.70	3.13	0.00
Leu	0.03	1.36	3.41	5.96	3.39	3.31	1.61
%REC.	0.88	30.76	88.84	67.23	80.07	81.38	14.20

Indica el aminoácido en mayor concentración encontrado según el tratamiento aplicado al subproducto de tenería.

7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS AMINOÁCIDOS POR TRATAMIENTO

Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para ver la distribución de probabilidades que tiene las variables, el análisis de varianza por la Anova y la prueba de Turkey-B para estimar la diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo a los rendimientos de los aminoácidos que se obtuvieron. En las tablas No. 23 a la No. 35 y las gráficas No. 17 a 29 presentan la estadística individualmente de cada aminoácido y

una tabla del por ciento de recuperación. En cada aminoácido se hizo la discusión para determinar que tratamiento de hidrólisis es el más apropiado para el obtener el máximo rendimiento.

7.8.1 ÁCIDO ASPÁRTICO:

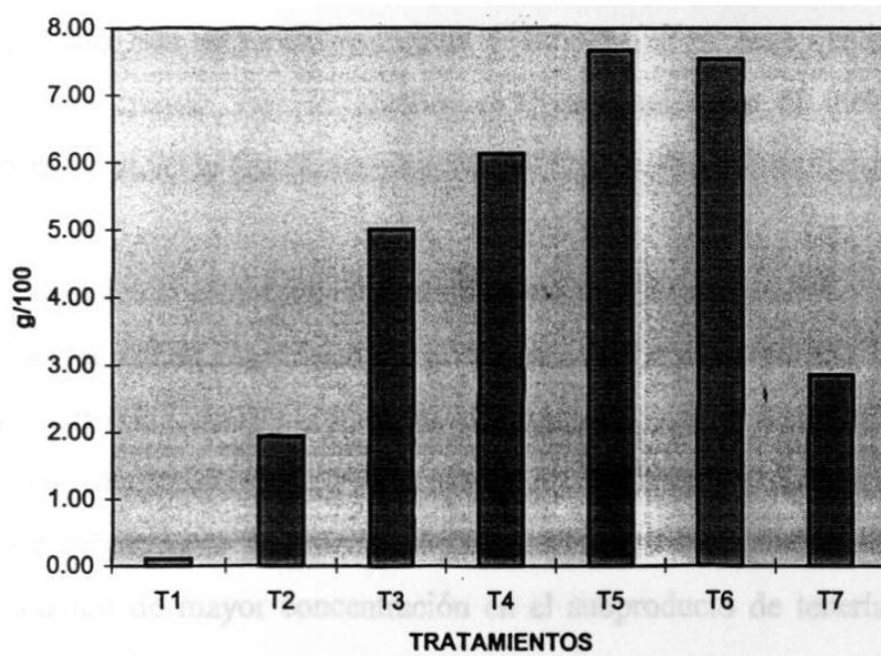
La tabla No. 23 y la gráfica No. 17 nos muestran las concentraciones de Ac. Aspártico que se obtuvieron en los diferentes tratamientos, el tratamiento 1,7 y 2 no tiene diferencia significativa; al igual que el tratamiento 7,2 y 3; el tratamiento 3,4,5,y 6 no tienen diferencia significativa o comparativamente sus rendimientos son parecidos. Se hizo la varianza para los tres tratamientos de mayor rendimiento No. 4, 5 y 6 encontrándose un C.V.= 0.72%.

Al realizar el análisis se encontró que el orden creciente de rendimiento según el número de tratamiento fue así: 1, 7, 2, 3, 4, 6, y 5. Siendo el de mayor rendimiento o recuperación para el Ac. Aspártico el tratamiento 5 altas temperaturas en tiempos cortos, la temperatura de 145 °C x 4 h, obteniéndose una media de 7.67 g/100, pero no existe mucha diferencia entre el tratamiento 5 y 6 , en el tratamiento 6 se obtuvo 7.54 g/100 habiendo solamente una diferencia de 0.13 g/100, el tratamiento 6 corresponde a la misma temperatura y tiempo que el tratamiento 5, la diferencia fue que en el tratamiento 6 se adiciono 1% de fenol para mejor recuperación de aminoácidos como Arginina, donde se obtiene 0.04 g/100 mas. Así, si se desea obtener el mejor rendimiento para el Ácido Aspártico y obtener una buen por ciento de recuperación general de aminoácidos se debe de hidrolizar a la proteína con el tratamiento 5.

TABLA No. 23 Concentración de **Ácido Aspártico** obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	c	c	c	ab
Asp gr/100	0.11	1.95	5.01	6.13	7.67	7.54	2.85

*las letras iguales corresponden a los tratamientos que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 17 Concentración de **Ácido Aspártico** por tratamiento

7.8.2 ÁCIDO GLUTÁMICO:

En la tabla No. 24 y la gráfica No. 18 nos muestra la estadística y los rendimientos obtenidos del ácido glutámico, cuando el subproducto de tenería fue sometido a los diferentes tratamientos, encontrándose un rendimiento en orden creciente así: 1, 7, 2, 3, 4, 5 y 6. Siendo el de mayor rendimiento para el Ac. Glutámico el tratamiento 6, la temperatura de 145 °C x 4 h, con adición de fenol, obteniéndose una media de 11.77 g/100. El tratamiento No. 6 ocupa el segundo lugar en rendimiento, no habiendo una diferencia significativa entre el tratamiento 4,5 y 6 con un C.V.= 1.36%, observándose que tiempos cortos a mayores temperaturas el rendimiento es mayor para el Ácido Glutámico. Además en el análisis de HPLC fue rápida su detección, debido a su orden de elusión aproximadamente de 5 a 6 min.

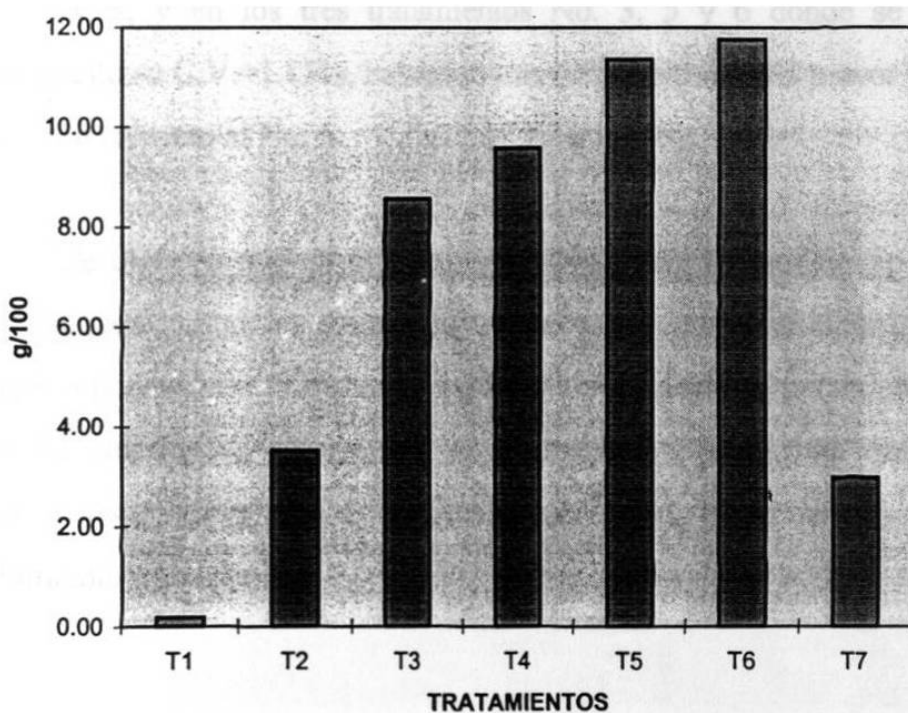
Comparando la composición de ácido glutámico en la piel de bovino (7.5%) (Peterson, J.1978) (46) y el subproducto de tenería (11.77 g/100) en el mejor tratamiento, con un rendimiento total de 81.38%, se observó que en el subproducto de tenería es mayor. Por lo anterior se recomienda que el mejor tratamiento para determinar al ácido Glutámico es el No. 6

El ácido glutámico es el aminoácido de mayor consumo a nivel mundial; la sal sódica del Ácido Glutámico, el glutamato monosódico (GMS) se usa como aditivo alimentario (DEIA, 1994) y agente terapéutico, esto lo hace ser uno de los aminoácidos de mayor demanda productiva. Buscando nuevas alternativas de producción, como es el uso de subproducto de tenería para la obtención del ácido glutámico, si bien no es el aminoácido de mayor concentración en el subproducto de tenería, si proporciona un buen rendimiento.

**Tabla No.24 Concentración de Ácido Glutámico obtenida
y la comparación entre sus tratamientos**

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	c	c	c	a
Ác. Glu. g/100	0.18	3.52	8.57	9.58	11.38	11.77	3.00

* Las letras iguales corresponden a los tratamientos que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 18 Concentración de Ácido Glutámico por tratamiento

7.8.3 SERINA

En la tabla No. 25 y la gráfica No. 19 nos muestra los rendimientos obtenidos para el aminoácido de Serina, según el análisis estadístico podemos resumir que el rendimiento según el tratamiento en orden creciente fue así: 1, 2, 7, 4, 3, 6 y 5. Siendo el de mayor rendimiento para la Serina en el tratamiento 5, la temperatura de 145 °C x 4 h, obteniéndose una media de 5.65 g/100.

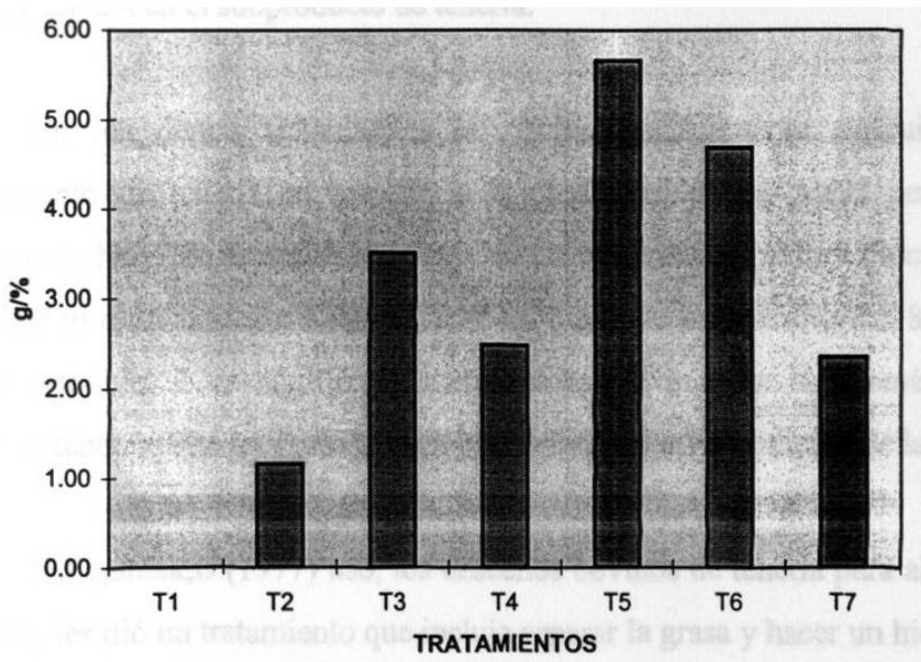
La Serina es destruida en tiempos largos de hidrólisis (Gehrke,C., 1987), señala que los tiempos de hidrólisis para recuperar a la Serina son mejores a 145 °C x 4h, ya que a 110 °C x 24 h se pierde gran parte, lo cual se comprobó debido a la recuperación que se obtuvo en el tratamiento No. 3 110 °C x 24h ya que observó una pérdida del 38%. Y en el tratamiento No. 4 donde se alarga el tiempo de hidrólisis por 2 horas mas, a la misma temperatura 110 °C, la Serina se pierde en un 56% con respecto al tratamiento No. 5. Entre el tratamiento No. 5, 6, 3 y 4 no existe una diferencia significativa, y en los tres tratamientos No. 3, 5 y 6 donde se obtuvo el mayor rendimiento su C.V.=1.15%, habiendo una diferencia de 18% mayor para el tratamiento No. 5 con respecto al No. 6.

Se observó que en el tratamiento No. 2 no fue suficiente la hidrólisis de la proteína, para romper los enlaces peptídicos donde interviene la Serina, debido a que se obtuvo una concentración menor del 80% con respecto al tratamiento No. 5. Así, por todo lo anterior se recomienda al tratamiento No. 5 para que proporcione las condiciones óptimas para hidrolizar al subproducto de tenería, y obtener el mayor rendimiento de la Serina.

Tabla No. 25 Concentración de Serina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bcd	abcd	d	cd	abc
Ser g/100	0.00	1.16	3.50	2.48	5.65	4.68	2.35

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 19 Concentración de Serina por tratamiento

7.8.4 GLICINA

En la tabla No. 26 y la gráfica No. 20, se observan los rendimientos, obtenidos para la glicina cuando el producto de tenería fue sometido a los diferentes tratamientos de hidrólisis. Según el análisis estadístico observamos un rendimiento en los tratamientos en orden creciente así: 7, 1, 4, 2, 5, 6, y 3. Siendo significativamente diferente y con mayor rendimiento para la glicina en el tratamiento No. 3, la temperatura de 110 °C x 24 h, obteniéndose una media de 39.57 g/100, con un C.V.= 171.3% con respecto al tratamiento 5 y 6, no se tomaron en cuenta los demás tratamientos No. 1, 2, 4 y 7 para ver su varianza porque fueron significativamente muy diferentes.

La glicina es el aminoácido que se encuentra en mayor cantidad en el subproducto de tenería y una hidrólisis óptima, nos asegura el mayor rendimiento. De tal manera que las temperaturas menores a tiempos largos producen una hidrólisis del 99% y con un daño menor para la glicina, ya que temperaturas mas altas a tiempos cortos 145 °C x 4 h como en el tratamiento No. 5 y 6 producen una pérdida de 54% al 61% de glicina en el subproducto de tenería.

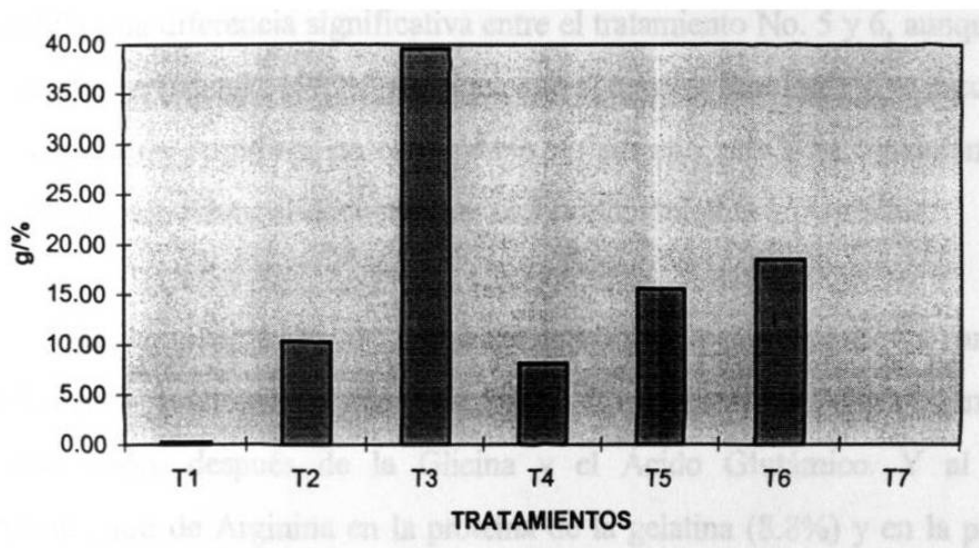
En los demás tratamientos la glicina es fácilmente destruida, cuando el subproducto de tenería se sometió a la preoxidación con ácido per fórmico en el tratamiento No. 7 no se encontró nada, y en la temperatura óptima a tiempos mas largos, como es en el tratamiento No. 4 110 °C x 26 h hubo una pérdida del 85%. Así que el tratamiento No. 3 es significativamente diferente a todos los demás tratamientos, recomendándose este tratamiento para obtener el mejor rendimiento de la glicina.

Felicjaniak,B.(1977) usó, los desechos bovinos de tenería para alimentar cerdos y pollos, les dió un tratamiento que incluía separar la grasa y hacer un hidrolizado a 110 °C y a un pH 4-6. Después analizó sus aminoácidos y encontró que este hidrolizado no tenia Triptofano, era Bajo en Lisina y Metinina y contenía gran concentración de Glicina, Prolina y Acido Glutámico.

TABLA No. 26 Concentración de Glicina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	b	d	ab	bc	c	a
Glicina g/100	0.25	10.29	39.57	8.10	15.56	18.53	0.00

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 20 Concentración de Glicina por tratamiento

7.8.5 ARGININA

En la tabla No. 27 y la gráfica No. 21 muestra los rendimientos obtenidos correspondientes a la arginina, la recuperación es más notable a 110 °C x 26 h, encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 7, 1, 2, 3, 5, 6, y 4. Siendo el de mayor rendimiento para la Arginina en el tratamiento No. 4, obteniéndose una media de 12.31g/100.

Según el análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa de rendimiento entre los tratamientos No. 4, 5 y 6, con un C.V.= 1.20%.

El tratamiento No. 4 donde la temperatura es de 110 °C y se alarga el tiempo de hidrólisis por dos horas más hasta 26 h, lo recomendado por la literatura son 110 °C x 24 h (Gehrke, C., 1985). Se obtuvo un 44% de rendimiento mayor, esto muestra que tiempos mayores de exposición de hidrólisis de la proteína del subproducto de tenería en esta temperatura, se obtiene mayor rendimiento.

En el tratamiento No. 5 y 6 se pierde un 15.6% y 15.3% respectivamente, no habiendo una diferencia significativa entre el tratamiento No. 5 y 6, aunque la literatura según Mason (Merck, 1989), menciona que al agregar fenol al 1% se recupera mejor al aminoácido de Arginina, en este trabajo no sucedió así. Y el tratamiento No. 1 y 2 fueron muy agresivos al descomponer casi por completo a la Arginina.

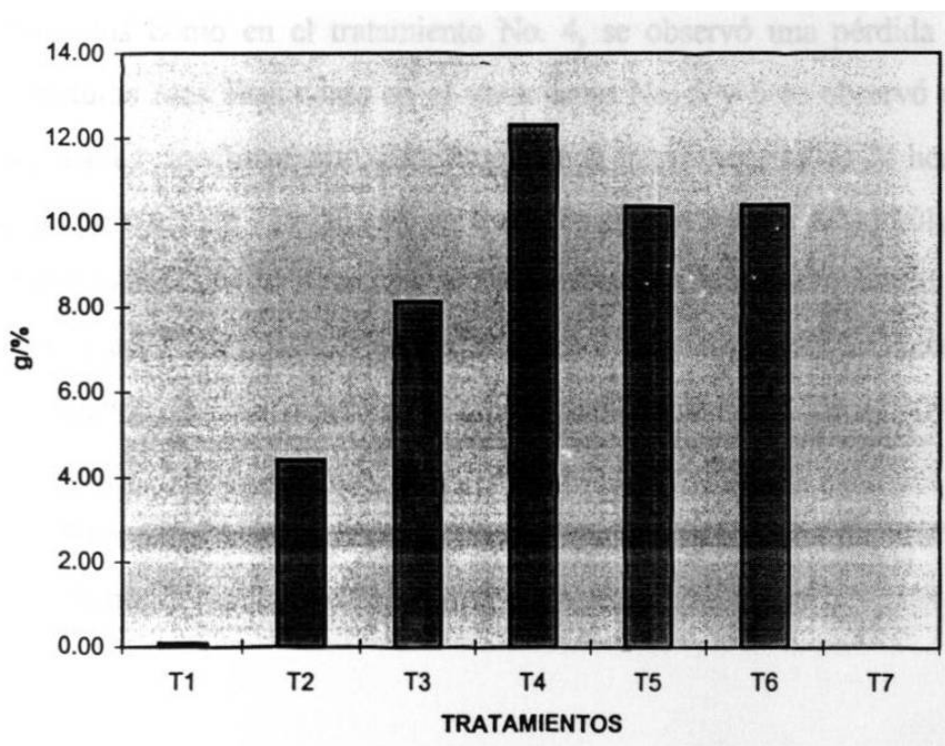
La concentración de Arginina encontrada corresponde a un 18.3% del rendimiento total del tratamiento, esto lo hace ser el tercer aminoácido en concentración, después de la Glicina y el Ácido Glutámico. Y al comparar la concentración de Arginina en la proteína de la gelatina (8.8%) y en la piel de bovino (5.1%) (Peterson, J.,1978), con el subproducto de tenería, este es superior en concentración.

Por lo anterior se recomienda hidrolizar al subproducto de tenería, en el tratamiento No. 4 para el mejor rendimiento del aminoácido Arginina.

Tabla No. 27 Concentración de Arginina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	b	c	d	cd	cd	a
Arginina g/100	0.09	4.43	8.13	12.31	10.39	10.43	0.00

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No.21 Concentración de Arginina por tratamiento

7.8.6 TREONINA

La recuperación de la Treonina después de las diferentes hidrólisis se muestra en la tabla No. 28 y en la gráfica No. 22. Podemos ver una diferencia significativa muy importante en las diferentes temperaturas, siendo la de mayor recuperación la de 110 °C x 24 h, el análisis estadístico muestra que no existe una diferencia significativa entre 6 de los 7 tratamientos, encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 1, 2, 7, 4, 6, 5 y 3. Siendo el de mayor rendimiento para la treonina en el tratamiento 3, obteniéndose una media de 3.48 g/100, y habiendo un C.V.= 0.18% entre los tres tratamientos de mayor recuperación el No. 3, 5 y 6.

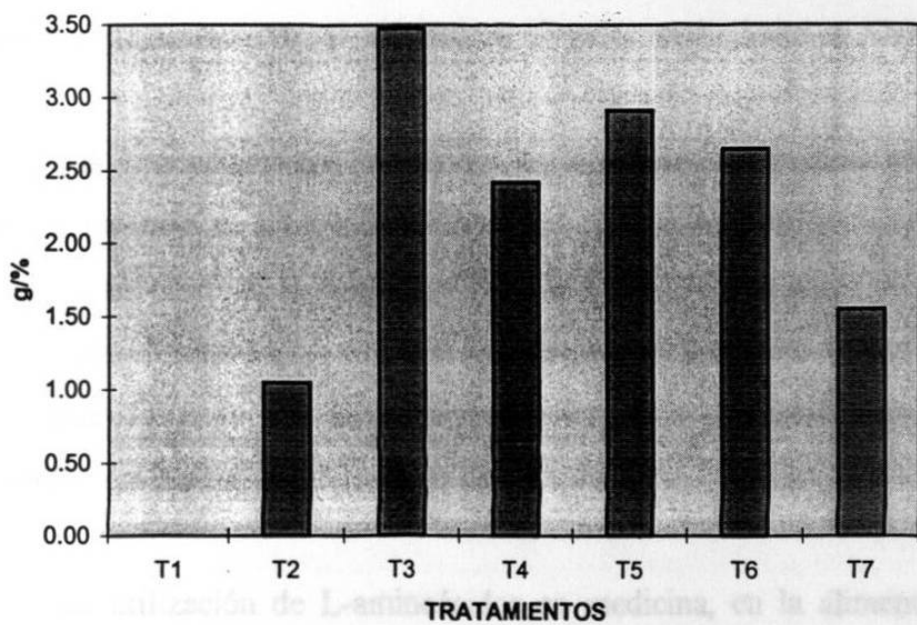
Gehrke,C. (1985) comparo, el grado de recuperación de Treonina de varias proteínas como de la Harina de pescado y el hígado de bovino, los sometió a dos tratamientos de hidrólisis a 145 °C x 4 h y 110 °C x 24 h, y encontró mayor recuperación en el segundo tratamiento. La Treonina igual que la Serina son susceptibles a temperaturas altas y tiempos de hidrólisis mas prolongados De tal manera que se comprobó esto al hidrolizar al subproducto de tenería. En tiempos mas prolongados como en el tratamiento No. 4, se observó una pérdida del 31%, y en temperaturas mas altas como en el tratamiento No. 5 y 6 se observó una pérdida del 17% y 24% respectivamente, cabe agregar que son necesarias las 24 horas de hidrólisis a la temperatura de 110 °C, debido a que en tiempo menor de hidrólisis, como en el tratamiento No. 2: 110 °C x 22 h, no son suficientes para hidrolizar al subproducto de tenería, y así romper los enlaces peptídicos donde interviene la Treonina, ya que la concentración de Treonina obtenida en este tratamiento No. 2 fue un 70% menor .

Recomendándose el Tratamiento No. 3, la temperatura de 110 °C x 24 h. para obtener el mejor rendimiento en la determinación de Treonina.

Tabla No. 28 Concentración de Treonina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	b	ab	b	ab	ab
Treonina g/100	0.00	1.05	3.48	2.42	2.91	2.65	1.55

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 22 Concentración de Treonina por tratamiento

7.8.7 ALANINA

En la Tabla No. 29 y la gráfica No. 23 se muestra los rendimientos obtenidos correspondientes a la determinación de Alanina, en los diferentes tratamientos de hidrólisis del subproducto de tenería. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 1, 7, 2, 4, 5, 3 y 6. Siendo el de mayor rendimiento el tratamiento No. 6, obteniéndose una concentración media de 8.82 g/100.

El análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa entre 4 tratamientos, como son el No. 3, 4, 5, y 6 y con un C.V.= 0.34% entre los tres tratamientos de mayor recuperación el No. 3, 5 y 6. Esto indica que la Alanina tiene un comportamiento mas estable de hidrólisis, específicamente en el tratamiento No. 3 (7.84 g/100) y el tratamiento No. 5 (7.78 g/100), siendo un poco menor su rendimiento con un 13% y 12% respectivamente, en comparación con el tratamiento No. 6. Recordando que el tratamiento No. 3 y 5 son los métodos mas usuales, de hidrólisis de proteína utilizado por la mayoría de los laboratorios de análisis e investigación y los recomendados por la literatura. Por lo anterior se recomienda que el subproducto de tenería se hidrolize de acuerdo al tratamiento No. 6 para obtener el mejor rendimiento en Alanina.

Las concentraciones de Alanina en la proteína de gelatina son de 9.3 a 11.00 g/100, la proteína de colágeno contiene 11% (White, A., 1983), y en el subproducto de tenería se encontró en el mayor rendimiento 8.82 g/100, al hacer esta comparación se observa que el subproducto de tenería que corresponde en gran parte a dermis de bovino puede estar formado por colágeno y elastina, dos proteínas fibrosas que dan las características físicas al subproducto de tenería.

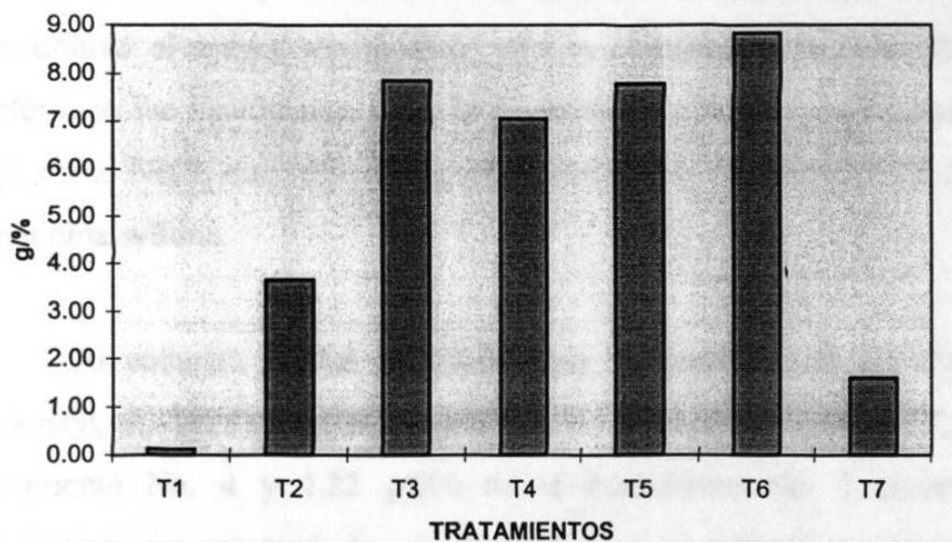
La utilización de L-aminoácidos en medicina, en la alimentación humana y animal se ha desarrollado rápidamente en los últimos años y la producción económica de los aminoácidos ópticamente activos se ha investigado extensivamente.(García, 1993). La Alanina en la actualidad tiene un mercado donde se usa como aditivo, da un sabor dulce a los alimentos procesados(Badui,D., 1990). Y su uso en farmacología y

cosmetología es amplio. Su obtención es a partir del DL ácido aspártico y este a su vez se obtiene del ácido fumárico y amonio por métodos de fermentación o enzimáticos.

Tabla No.29 Concentración de Alanina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	bc	bc	c	a
Alanina g/100	0.13	3.66	7.84	7.04	7.78	8.82	1.62

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 23 Concentración de Alanina por tratamiento

7.8.8 METIONINA

La recuperación de la Metionina después de las diferentes hidrólisis a que fue sometido el subproducto de tenería se muestra en la tabla No. 30 y la gráfica No. 24. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 1, 2, 3, 7, 6, 5 y 4. Siendo el de mayor rendimiento para la metionina en el tratamiento 4, obteniéndose una concentración media de 2.29 g/100.

La Metionina se pierde en parte durante las hidrólisis ácidas, esta eluye aproximadamente a los 35-38 minutos en el HPLC, y según las condiciones de hidrólisis que se aplicaron se esperaba que la Metionina se destruyera en gran parte, a excepción del tratamiento No. 7, que es el específico para determinar Metionina al hacer una preoxidación antes de la hidrólisis y determinarla como Metionina sulfona. (McDonald, J., 1985).

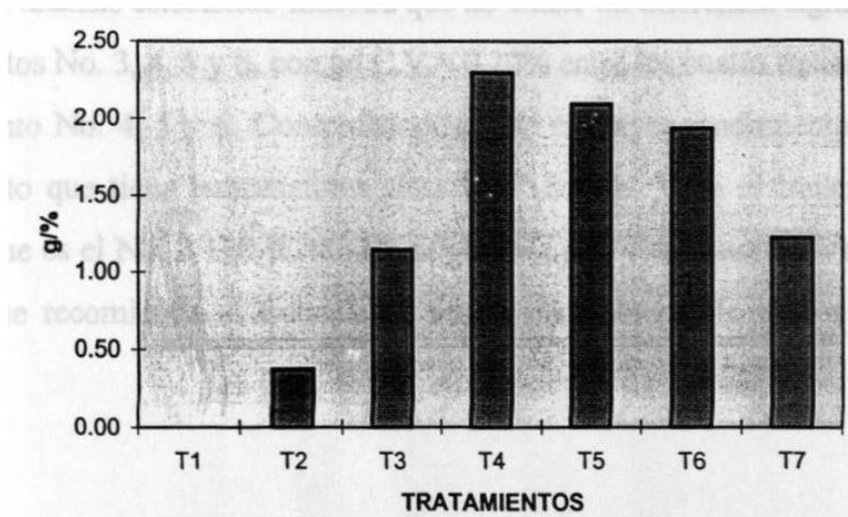
Según el análisis estadístico nos muestra que de acuerdo a los tratamientos que se aplicaron al subproducto de tenería, no hay una diferencia significativa entre los tratamientos No. 4, 5 y 6, con un C.V.= 0.032% y que el tratamiento No. 7 donde se esperaba obtener mayor concentración, tuvo un 47% menos que el tratamiento No. 4 que obtuvo el mayor rendimiento, esto se esperaría si la preoxidación con ácido per fórmico fue insuficiente, y/o a la presencia de cloruros provenientes del exceso de HCl como NaCl, que reducen significativamente la recuperación de Metionina como Metionina sulfona.

Al compara la piel de bovino que contiene de 0.8 a 1.6% de Metionina (Peterson, J., 1978), con el subproducto de tenería que contiene 2.29 g/100 en el tratamiento No. 4 y 1.22 g/100 en el tratamiento No. 7 observamos que las concentraciones son parecidas, por lo anterior se recomienda el tratamiento No. 4 para obtener el mayor rendimiento de Metionina, a partir del subproducto de tenería, revisando primeramente el método recomendado por la AOAC que es el tratamiento No. 7.

Tabla No. 30 Concentración de Metionina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	d	cd	cd	ab
Metionina g/100	0.00	0.37	1.14	2.29	2.09	1.93	1.22

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 24 Concentración de Metionina por tratamiento

7.8.9 VALINA

La recuperación de Valina en los diferentes tratamientos a que fue sometido el subproducto de tenería se muestran en la Tabla No. 31 y en la gráfica No. 25. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 7, 1, 2, 3, 4, 6 y 5. Siendo el de mayor rendimiento para la valina en el tratamiento 5, obteniéndose una concentración media de 3.41 g/100.

La Valina es uno de los aminoácidos de lenta hidrólisis o de lento rompimiento de los enlaces peptídicos donde interviene, (Gehkre, 1985), debido a que sus enlaces peptídicos son difíciles de hidrolizar en especial los enlaces Valina-Valina, de tal manera que en tiempos largos y temperaturas mayores de exposición, se obtiene mayor rendimiento.

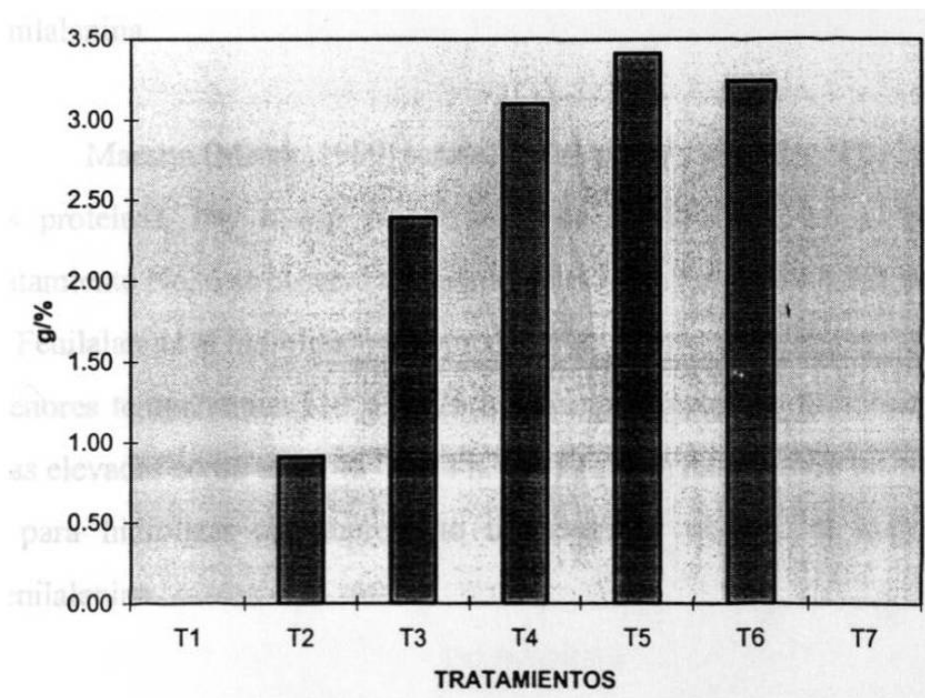
Gehkre (1985) reporta, que se obtiene un aumento en la recuperación de la Valina de 8 a 9%, cuando la proteína es sometida a hidrólisis a 145 °C x 4 h en comparación con la hidrólisis de 110 °C x 24 h.

El análisis estadístico muestra que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos No. 3, 4, 5 y 6, con un C.V.= 0.20% entre los cuatro tratamientos de mayor rendimiento No. 4, 5 y 6. Comprobándose que el mayor rendimiento se obtuvo en el tratamiento que tiene temperaturas altas 145 °C x 4h. Y en el tratamiento de menor tiempo que es el No. 2 110 °C x 22 h se observa un 74% menor de Valina. Por todo lo anterior se recomienda al tratamiento No. 5 para obtener la mayor recuperación de Valina.

Tabla No. 31 Concentración de Valina obtenida y su comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	a	b	b	b	b	a
Valina g/100	0.00	0.91	2.39	3.10	3.41*	3.24	0.00

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 25 Concentración de Valina por tratamiento

7.8.10 FENILALANINA

En la Tabla No. 30 y la gráfica No. 26 muestran los rendimientos obtenidos en la determinación de Fenilalanina, cuando el subproducto de tenería fue sometido a los 7 tratamientos de hidrólisis. Encontrándose un rendimiento en orden creciente así: 7, 1, 2, 3, 6, 5 y 4. Siendo el de mayor rendimiento para la fenilalanina en el tratamiento 4, obteniéndose una concentración media de 6.35 g/100.

El análisis estadístico muestra que no existe diferencia significativa entre los tratamientos No. 4, 5 y 6. Con un C.V.= 0.28%, aún así, en el tratamiento No. 5 y 6 hubo una pérdida de 4% y 16% respectivamente, con respecto al tratamiento de mayor rendimiento el No. 4.

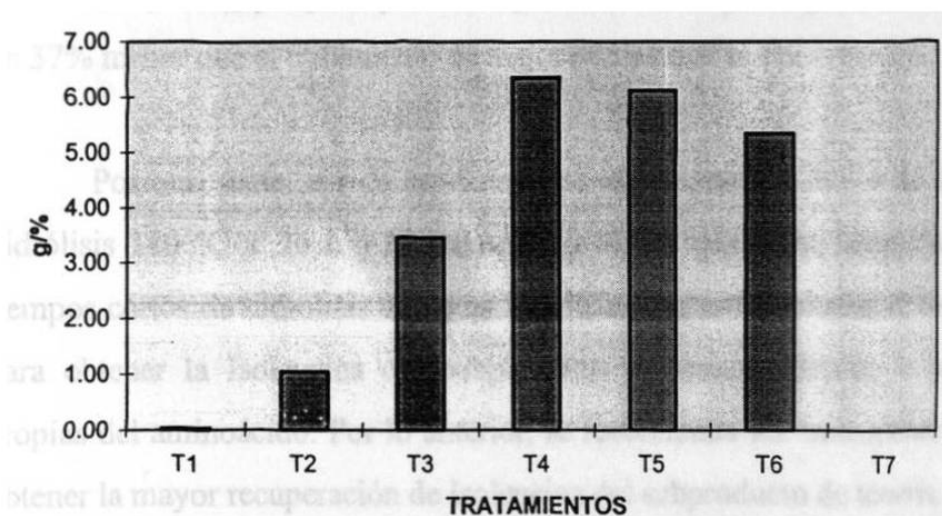
En el tratamiento No. 7 hay una pérdida total de Fenilalanina debido a la oxidación con ácido per fórmico, y en el tratamiento No. 1 hay muy poca recuperación (0.04 g/100). Esto demuestra que las condiciones de vacío y atmósfera de N₂ son muy importantes para una mayor recuperación de todos los aminoácidos, además las condiciones drásticas como la oxidación con ácido per fórmico destruyen a la fenilalanina.

Maeson (Merck, 1989) señala, que al añadir 1% de fenol en la hidrólisis ácida de las proteínas, hay mayor recuperación de Fenilalanina. En el presente trabajo el tratamiento No. 6 se observó una pérdida del 16%, y el mejor tratamiento para obtener a la Fenilalanina al hidrolizar el subproducto de tenería, son tiempos largos de hidrólisis a menores temperaturas 110 °C x 26 h y tiempos cortos de hidrólisis con temperaturas mas elevadas como es a 145 °C x 4 h. Por lo que se recomienda los tratamientos No. 5 y 6 para hidrolizar al subproducto de tenería y obtener el mejor rendimiento de Fenilalanina.

Tabla No. 32 Concentración de Fenilalanina obtenida y la comparación entre los tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	a	b	c	c	bc	a
Fenilalanina g/100	0.04	1.04	3.46	6.35*	6.12	5.34	0.00

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 26 Concentración de Fenilalanina por tratamiento

7.8.11 ISOLEUCINA

La recuperación de Isoleucina en los diferentes tratamientos se muestra en la tabla No. 33 y la gráfica No. 27. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 7, 1, 2, 3, 6, 4 y 5. Siendo el de mayor rendimiento para la isoleucina en el tratamiento 5, obteniéndose una concentración media de 3.70 g/100.

La Isoleucina es un aminoácido de lenta hidrólisis, al igual que la valina posee enlaces peptídicos difíciles de hidrolizar, de tal manera que tiempos largos de hidrólisis de una proteína proporcionan mejor recuperación de Isoleucina.

El análisis estadístico muestra que no hay una diferencia significativa entre los tratamientos No. 4, 5 y 6, con un C.V.= 0.81% para estos tres tratamientos. Observándose la mayor recuperación (3.7 g/100) a 145 °C x 4 h, con una pérdida del 7% y 15% para los tratamientos No. 4 y 6 respectivamente.

La oxidación con ácido per fórmico destruye por completo a la isoleucina en el tratamiento No. 7 y la recuperación en el tratamiento No. 1 fue muy escasa.

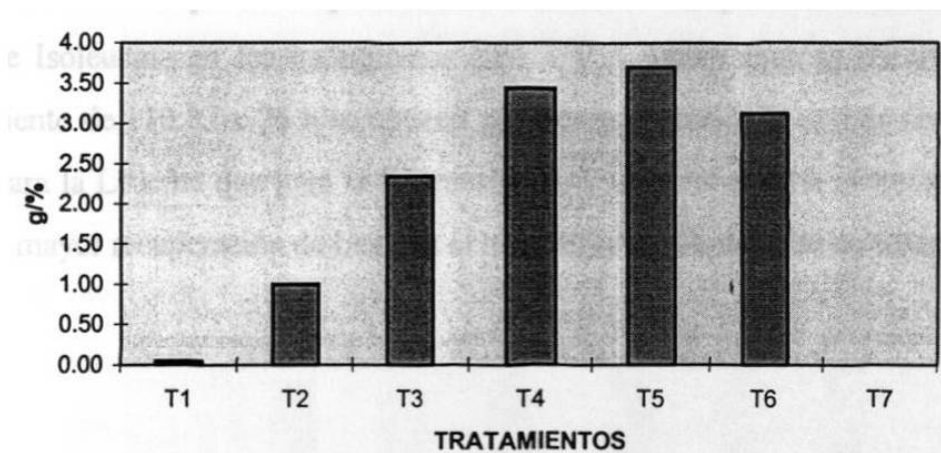
El tratamiento No. 2 que proporciona una temperatura de 110 °C x 22 h , comprueba que la Isoleucina es de lenta hidrólisis sobre todo en los enlaces Ile-Ile (Gehkre, C.,1985), ya que aquí la recuperación fue de 2.35 g/100 lo que corresponde a un 37% menor que el tratamiento de mejor recuperación de Isoleucina.

Por otro parte, era de esperarse que el tratamiento No. 4 de mayor tiempo de hidrólisis 110 °C x 26 h y el tratamiento No. 5 que tiene temperatura mas alta en tiempos cortos de hidrólisis como es 145 °C x 4 h, proporcionan el mejor rendimiento para obtener la Isoleucina del subproducto de tenería, debido a las características propias del aminoácido. Por lo anterior, se recomienda los tratamientos No. 4 y 5 para obtener la mayor recuperación de Isoleucina del subproducto de tenería.

Tabla No. 33 Concentración de Isoleucina y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	c	c	c	a
Isoleucina g/100	0.05	1.00	2.35	3.44	3.70	3.13	0.00

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 27 Concentración de Isoleucina por tratamiento

7.8.12 LEUCINA

La Leucina obtenida en los diferentes tratamientos en donde fue sometido el subproducto de tenería se muestran en la tabla No. 34 y la gráfica No. 28. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 1, 2, 7, 6, 5, 3 y 4. Siendo el de mayor rendimiento para la Leucina el tratamiento 4, obteniéndose una concentración media de 3.96 g/100.

El análisis estadístico muestra que los tratamientos No. 3, 4, 5 y 6 no tiene diferencia significativa, observándose un C.V.= 0.88% entre los cuatro tratamientos de mayor recuperación. De tal manera se muestra que el tratamiento No. 4, como el tratamiento de mejor recuperación de Leucina y con una pérdida de 14%, 15% y 16% respectivamente para los tratamientos No. 3, 5 y 6.

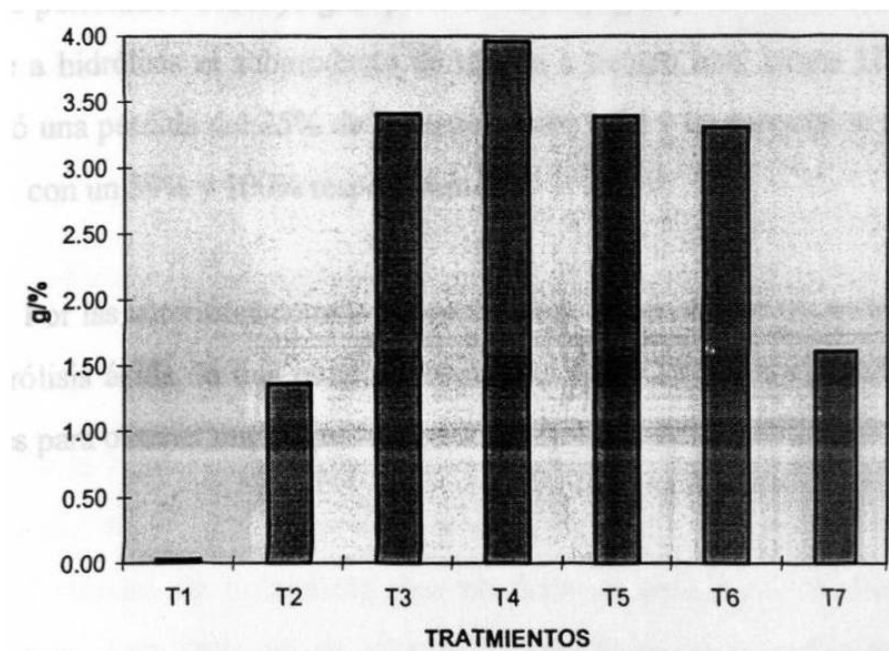
El tratamiento No. 1 muestra muy bajo rendimiento (9.03 g/100) con perdidas del 99%, y el tratamiento No.7 fue muy severo de tal manera se observó que la oxidación con ácido per fórmico destruye en un 61% a la Leucina.

Se observó que la recuperación de Leucina se comporta en forma muy parecida a la de Isoleucina en los tratamientos No. 4 y 5, pero aquí se observó que en el tratamiento de 110 °C x 26 h se obtiene mayor recuperación y es más favorable en un 13% para la Leucina que para la Isoleucina. Así se recomendaría al tratamiento No. 4 para la mayor recuperación de Leucina al hidrolizar el subproducto de tenería.

Tabla No. 34 Concentración de Leucina obtenida y la comparación entre sus tratamientos

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	ab	bc	c	bc	bc	a
Leucina g/100	0.03	1.36	3.41	3.96	3.39	3.31	1.61

*las letras iguales corresponden a los tratamiento que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 28 Concentración de Leucina por tratamiento

7.8.13 PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN GENERAL DE AMINOÁCIDOS POR TRATAMIENTO

El porcentaje de recuperación de cada tratamiento se muestran en la tabla No. 31 y la gráfica No. 29. Encontrándose el rendimiento en orden creciente así: 1, 7, 2, 4, 5, 6 y 3. Siendo el de mayor rendimiento para la recuperación total de aminoácidos en el tratamiento 3, donde se obtuvo una recuperación media de 88.84%.

El análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa entre los tratamientos No. 3, 5 y 6, con un C.V.= 0.43 para los tres mejores tratamientos. El tratamiento No. 3 fue el de mayor recuperación total y comparándolo con el Tratamiento No. 5 y 6 se observó una pérdida de 10.9% y 9.4% respectivamente.

El tratamiento No. 1 presenta una pérdida del 99.12%, demostrándose que las condiciones de hidrólisis como es el vacío y la atmósfera de N₂ son indispensables para la mayor recuperación de aminoácidos.

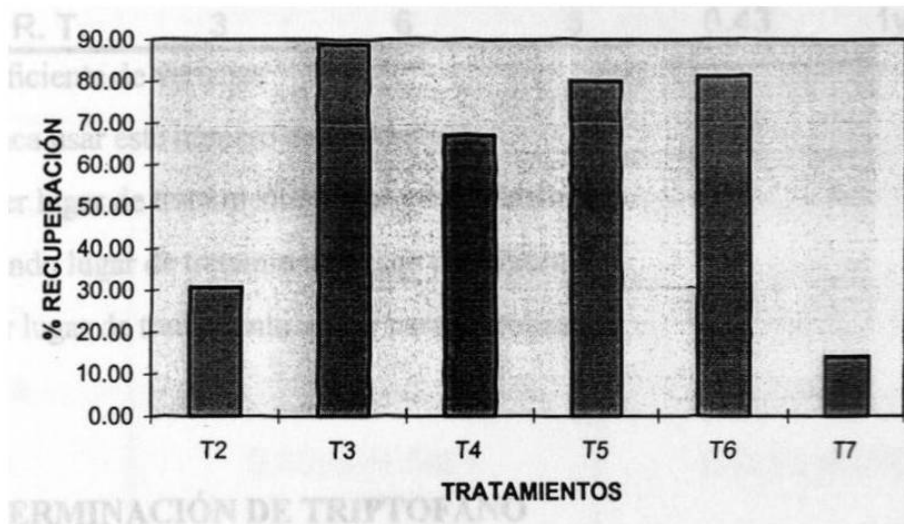
En el tratamiento No. 7 se pierde un 85.8% de aminoácidos, observándose que el ácido per fórmico destruye gran parte de ellos (pag 64). El tratamiento No. 4 donde se somete a hidrólisis el subproducto de tenería a tiempo mas largos 110 °C x 26 h, se observó una pérdida del 25% de la recuperación total y en especial se pierden Serina y Valina con un 59% y 100% respectivamente.

Por las anteriores comparaciones se puede observar que los tratamientos clásicos de hidrólisis ácida de una proteína, como son 110 °C x 24 h y 145 °C x 4 h son los mejores para obtener una mejor recuperación de aminoácidos.

Tabla No. 35 Porcentaje de recuperación total de aminoácidos de cada tratamiento y su comparación

Aminoácido	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	a	b	c	c	c	c	ab
%REC.	0.88	30.76	68.84*	67.23	80.07	81.38	14.20

*las letras iguales corresponden a los tratamientos que no tienen diferencia significativa



Gráfica No. 29 Porcentaje de recuperación total de aminoácidos por tratamiento

En la Tabla No. 36 se muestra un resumen de las mejores recuperaciones de los aminoácidos según el número de tratamiento aplicado al subproducto de tenería, así como el número de tratamiento que no deba de usarse por el daño que haría al aminoácido. Esta tabla en un momento dado puede guiar para poder decidir que tratamiento se debe de aplicar al subproducto de tenería para hidrolizarlo, y obtener las mejores recuperaciones de sus aminoácidos.

Tabla No. 36 Numero de tratamiento a usar para mayor rendimiento del aminoácido

Aminoácido	No. de tratamiento a usar para la hidrólisis del subproducto de tenería			C.V.	N.U.
	1o.	2o	3o		
Asp.	5	6	4	0.72	1y7
Glu	6	5	4	1.36	1y7
Ser	5	6	3	1.15	1y7
Gli	3	6	5	171.3	1y7
Arg	4	6	5	1.20	1y7
Thr	3	5	6	0.18	1y7
Ala	6	3	5	0.34	1y7
Met	4	5	6y7	0.03	1y2
Val	5	6	4	0.02	1y7
Phe	4	5	6	0.28	1y7
Ile	5	4	6	0.81	1y7
Leu	4	5	6	0.12	1y7
% de R. T.	3	6	5	0.43	1y7

C.V. coeficiente de varianza

N.U. nunca usar este número de tratamiento

1o. primer lugar de tratamiento a usar para hidrolizar

2o. segundo lugar de tratamiento a usar para hidrolizar

3o. tercer lugar de tratamiento a usar para hidrolizar

7.9 DETERMINACIÓN DE TRIPTOFANO

La determinación de triptofano se realizo por pruebas colorimetricas debido a que este aminoácido, es totalmente destruido en las hidrólisis ácida de las proteínas (Gehkre, C., 1985 y Muramoto,K, 1987), por lo que no se reportaron las concentraciones de triptofano en los siete tratamientos de hidrólisis a que fue sometido el subproducto de tenería.

Se pesaron 100 mg de muestra para obtener una concentración de 77.61 mg de proteína total, se realizaron tres repeticiones cuya concentración obtenida se muestran

en la tabla No. 37. Las concentraciones se obtuvieron de acuerdo a la curva de estándares de triptofano, la curva se hizo con concentraciones desde 0 a 40 mg/mL de triptofano, y la misma tabla muestra la conversión a cantidad en g DL triptofano % de proteína que se encuentran en la harina de subproducto de tenería.

Si comparamos la composición de triptofano en la dermis de bovino, la proteína de la gelatina y la proteína de colágeno vemos que los tres reportan cero de concentración. Se esperaría lo mismo para el subproducto de tenería de acuerdo a la naturaleza de este, y el análisis colorimétrico reporta cantidades muy pequeñas 0.07 g DL triptofano. Esto nos indica que el subproducto de tenería no sería una fuente de obtención importante de triptofano.

TABLA No. 37 Concentración de triptofano en el subproducto de tenería

	g DL Triptofano % de Muestra	g DL Triptofano % de Proteína
R1	0.1229	0.1583
R2	0.0289	0.0372
R3	0.0578	0.0744
—		
X	0.0698±0.0481	0.0899±0.0620

* R repetición

7.10 DETERMINACION DE LISINA REACTIVA

La Lisina también se determinó por métodos colorimétricos y solo en la muestra total. Se trabajo con 0.0857 g de la muestra representando un 0.0665 g de proteína total, tomando en base los contenidos de Lisina (3.55%), Hist (0.76%) y Arg (6.9%) de la proteína de la gelatina y variando según lo estimado por el método (Tejada,

I., 1992), que explica que se debe de tomar la cantidad de muestra, según el aminograma de la muestra a analizar y debido a que no se disponía del aminograma cuando se hizo esta prueba, tomamos de referencia el aminograma de la gelatina.

La Tabla No. 38 muestra los g de Lisina disponible/g de muestra encontrados en las tres repeticiones y calculados según la curva de estándar de anaranjado ácido 12 que van de 75 mg hasta 132 mg , equivalentes a 0.5 mM/L hasta 3.5 mM /L de Lisina que se fija y es medible.

Peterson J. (1978) reporta, en la tabla de composición de la dermis de bovino que esta contiene 0.23 a 0.31 unidades de aminoácidos/1000 unidades de proteína aproximadamente un 0.23% y en el subproducto de tenería encontramos 0.008 g DL Lisina % de Proteína, deficiente en gran cantidad como se observa, por lo que también al igual que el Triptofano, el subproducto de tenería no sería una fuente de obtención de Lisina.

TABLA No. 38 Concentración de Lisina reactiva en el subproducto de tenería

	g DL Lisina % de Muestra	g DL Lisina % de Proteína
R1	0.00637	0.00821
R2	0.00630	0.00812
R3	0.00625	0.00805
<u>X</u>	0.00634±0.00004	0.00813±0.00008

*R repeticón

VIII. CONCLUSIONES

- **La harina obtenida tiene una buena cantidad de proteína con excelente digestibilidad, tanto proteínica como de materia orgánica.**
- **Es factible la incorporación de esta harina de subproducto de tenería en una formulación como fuente de proteína, debido a sus características, bajo costo tecnológico y su relación costo-beneficio, cuidando solamente la relación con los demás ingredientes.**
- **Se recomienda usar el tratamiento adecuado de hidrólisis según el aminoácido a obtener , pero recomendándose en especial la hidrólisis ácida a 110 °C x 24 h y a 145 °C x 4 h, donde se obtiene mayor rendimiento de los aminoácidos en especial de Glicina.**
- **Se hace notar la potenciabilidad de los hidrolizados y/o aminoácidos del subproducto de tenería en la industria cosmetológica, alimenticia y farmacológica, evaluándose su factibilidad económica.**

BIBLIOGRAFÍA

Alanís, G. y García, C. 1993. Manual de Análisis de Alimentos. F.C.B. U.A.N.L. Monterrey, N.L. pp. 31.

Allen, R. 1989. Ingredient analysis table :1989 edition. Feedstuffs Newspaper. Canada. 61(31) pp. 24-28.

Association of Oficial Analytical Chemists, Washington D.C., 1980. Official methods of the A.O.A.C. 13th ed. Washington, D.C. pp. 69-82.

Agricultural Reserch Council. 1968. Necesidades nutritivas de los animales domésticos No.2. Rumiantes. ed. Academia. León, España. pp. 92.

Ashwort, R.B. 1987. Amino acid analysis for meat protein evaluation. J.Assoc. Off. Anal. Chem. 70(1) pp. 80-85.

Badui, S. 1990. Química de los Alimentos. 2a. ed. Alambra Mexicana. México, D.F. pp. 148, 192.

Badui Dergal Salvador. 1988. Diccionario de Tecnología de Alimentos. 1a. ed. Alambra. Madrid, España. pp. 40.

Banks, W. 1985. Veterinaria Aplicada. 2a. ed. El Manual Moderno. México, D.F. pp. 416-420.

Bildlingmeyer, B. 1987. A new, rapid, high-sensitivity analysis of amino acid in food type samples. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70. pp. 241-247.

- Bildlingmeyer, B. 1984. Rapid Analysis of Amino Acid Using Pre-column Derivatization. *Journal of Chromatography*. 336. pp. 93-104.
- Blackburn, S. 1978. *Amino Acid Determination Methods and Techniques*. 1a. ed. MerceL Dekker, Inc. New York. pp. 7-34.
- Blackburn, B. 1984. Rapid Analysis of Amino Acid Using Pre-column Derivatization. *Journal of Chromatography*. 336. pp. 93-104.
- Block, R. 1949. *Inf. Ion Exchange Thory And Application*. Academic Press Inc. pp. 149.
- Bronstein, P. & Sage, H. 1980. Structurally Distinct Collegen Types. *Annu. Rev. Biochem.* 49. pp. 957.
- Casanova, E. 1983. *Ecología y Nutrición. Cuadernos de Nutrición*. 5(3). pp. 9-11.
- Cohen, S.A. & Strydom, D. 1988. *J. Anal. Biochem.* 174. pp. 1-16.
- De Alba, J. 1973. *Alimentación de Ganado en América Latina*. 3a. reimpression de la 2a. edición. Talleres Gráficos de Editorial Fournier, S.A. México, D.F. pp. 40-45, 294-319, 973.
- Diccionario de Especialidades para la Industria Alimentaria*. 1993-1994. 4a. ed. México. pp. 104,254.
- Easton, I. & Glen, J. 1981. Devro, Inc. U.S.A. Eur. Pat. Appl. English. Abstract No.95:12794 ACS.
- Elliot, R.C. 1961. Protein Biological Values of Beef Cattle *J. Agric.* 58 pp. 131-135.

Engelhardt, H. 1986. In: Practice of High-Performance Chromatography. Ed. H Engelhard. Springer-Verlag, Berlín. pp. 409-425.

English and Hungary's Novex Co. Ltd. 10 Oct.1983. East/West Technol. Dig. 9(10), pp. 2 .

Felicjaniak, B. & Pietrzykowski, W. 1977. Use of untanned bovine hide wastes for a fodder. Inst. Przem. Skorzanego. Polis. 21. pp. 63-75.

Freer, M. Campling, R.C. 1963. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. Brit. Journal Nutrition. 17. pp. 79-88.

García, M. y Quintero, R. 1993. Biotecnología Alimentaria. 1a. ed. Editorial Limusa. México, D.F. pp. 401-420.

Garza-Ulloa, H., Garza Cantú, R. & Canales- Gaja, A.M. 1986. Determination of amino acid in wort and beer by reverse phase high-performance liquid chromatography. Amer. Soc. Brewing Chem. J. 44(2) pp. 47-51.

Gehrke, C.W. 1985. Sample Preparation for Chromathography of Amino Acid: Acid hydrolisis of Proteins. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68(5). pp. 811-821.

Gehrke, C.W., Rexroad, P.R. 1987. Quantitative Analysis of Cysteine, Methionine, Lysine and nine other Amino Acid by a single oxidation-4 hour hydrolisis method. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70(1). pp. 147-151.

Giral, F. 1983. La nutrición y los alimentos en el encuentro de dos mundos. Cuadernos de Nutrición. 5(3). pp. 9-11.

Goldnik, A. & Gajewska, M. 1984. Isolation of L-amino acids from protein hydrolyzates from waste bovine skin. Inst. Drug Sci. Med., Warsaw, 02-097, Pol. Acta Pol. Pharm. 40(3). pp. 377-382..

Hale, W. & Buchanan, J. 1984. Nutrient Requeriments of Beef Cattle. 6a. ed. National Academy Press. Washington, D.C. pp. 41.

Henrickson, R. 1984. Hode Collagen as a Food. J. Am. Leather. Chem. Assocc. 75(11) . pp. 464-470

Horwitz, W. 1982. Evaluation of Analytical Methods Used For Regulation on Foods and Drugs. Analytical Chemistry. 1(54) pp. 67a,76a.

Huurel, R., Lerman,P. & Carpenter,K. 1979. Reactive Lysine in Foodstuffs as Measured by a Rapid Dye-Binding Procedure. J. of Food Sc. 44 pp. 1221.

INEGI. 1994. Panorama Agropecuario VII Censo Agropecuario de 1991. Nuevo León. México. pp. 43-70.

INEGI. 1994. Anuario Estadístico del Estado de Nuevo León. Edición 1994. Nuevo León. México. pp. 243-249.

Ishida, Y., Fujita, T. & Asai, K. 1981. New Detection and Separation Method for Amino Acid by High Performance Liquid Chromatography. Journal of Chromatography. 204. pp. 143-148.

Kameoka, K. & Morimoto, H. 1959. Etent of digestion in the rumen reticulum omasum of goat. J. Dairy Sci. 42. pp. 1187-1197.

Knowlton, P., Hoover, W., Sniffen, C. 1976. Hydrolysates leather scrap as a protein source for ruminants. J. Animal Sci. 43.(5):1095.

- Ledeerer, E. & Ledeerer, M. 1960. *Cromatografía. Revisión de sus Principios y Aplicaciones*. 2a. ed. Editorial Ateneo. Argentina. pp. 315-361.
- Lehninger, A. 1993. *Bioquímica*. 2a. ed. Omega. Barcelona. pp. 137-139.
- McDonald, J. 1985. Oxidation and Hydrolisis Determination of Sulfur Amino Acid in food and Feed Ingredients. *J. Anal. Chem.* 68(5). pp. 826-828.
- Merck Informa. 1989. *Determinación de la Composición Aminoacídica de Proteína en Harinas de Pescado*. Merck Química Chilena Soc. No.26. pp. 2-6.
- Muramoto, K., Sunahara, S. & Kamiya, H. 1987. Measurement of tryptophan by acid hydrolisis in the presence of phenol and its application to the aminoacid sequence of a sea anemone toxin. *Agric. Biol. Chem.* 51(6). pp. 1607-1616.
- NRC, 1984. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. National Sixt Revised Edition. National Academy Press. Washington, D.C. pp. 6-11.
- Noll, J. & Simmond, D. 1974. A Modified Biuret Reagent For Determination of Protein. *American Association of Cereal Chemistry*. pp. 610-616.
- Peterson, J. 1978. *Encyclopedia of Food Science*. The Avi Publishing Company, Inc. U.S.A. pp. 156.
- Protein Quality Evaluation. Report of Joint FAO/WHO. 1990. Expert Consultation.* Food and Agriculture Organization of the United Nations. pp. 10-13.
- Quattrocchi, O.A., Abelaira, S. & Laba, R. 1992. *Introducción a la HPLC. Aplicación y Práctica*. Editorial La Argentina.

Qureshi, G.A., Fohlin, L. & Gergstrom, J. 1987. Application of high-performance liquid chromatography to the determination of free amino acids in physiological fluids. *J. Chromatography*. 297. pp. 91-100.

Ramshaw, J. 1985. Examination of the collagen from normal and vertical fiber hides. *J. Am. Leather Chem. Assoc.* 80(8). pp. 219-25.

Salazar, M. 1993. Aminoácidos por cromatografía de líquidos de alta resolución. Estudio de perfiles en frutos de diferentes especies de *Karwinskia*. Tesis. Fac. de Medicina, U.A.N.L. Monterrey, N.L. México. pp. 1-8

Sanchez, J. Periódico El Norte. 8 de agosto de 1995. Denuncian mal manejo de desechos animales. *Ecología*. Monterrey, N.L. pp. 4b.

Subcommittee on Nitrogen Usage in Ruminantes. 1985. Degradation of Dietary Crude Protein in the Reticulo-Rumen. National Academy Press. Washington, D.C. pp. 28-36.

Subcommittee on Underutilized Resources as Animal Feedstuffs. 1993. National Academy Press. Washington, D.C. pp. 30-35

Subproductos Animales. 1985. Manual para Educación Agropecuaria. ed. Trillas/SEP. México, D.F. pp. 39-49.

Tabla de Composición de Pastos, Forrajes y otros Alimentos de Centroamérica y Panamá. 1968. INCAP. Guatemala. pp. 10-13,24,34,79.

Tejada, I. 1992. Control de Calidad y Análisis de Alimentos para Animales. ed. Sistemas de Educación Continua en Producción Animal AC. pp. 48-50.

Tilley, J. & Terry, R. 1963. A Two-Stage Technique For The "In Vitro" Digestion of Forage Crops. *J. British Grass. Soc.* 18:104-111.

Turba, J. 1954. *Cromatographische Methoden Inder Proteinchemie, e Inschliesslich Verwandter Methodenwie Gegenstromverteilung,Paper-ionphorese*. Springer Verlag, Berlin. pp. 358.

Underutilized Resources as Animal Feedstuffs. 1983. Committee on Animal Nutrition. Board on Agriculture. National Research Council. National Academy Press. Washington D.C. pp. 35-38.

Villegas, E. 1975. *An Integral System For Chemical Screening of Quality-Protein Maize in "High Quality Protein Maize"*. Halsted Press a Division of Wiley Sons. U.S.A.

Waldroup, P.W. 1970. Hydrolyzed leather meal in broiler diets. *Poult. Sci.* 49(5). pp. 1959.

Wattiaux, M. 1997. *Resumen breve de Nutrición y Alimentación*. #5.

[Http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch1/dig.html](http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch1/dig.html)

Wattiaux, M. & Howard, T. 1997. *Resumen breve de Nutrición y Alimentación* #6

[Http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch1/dig.html](http://babcock.cals.wisc.edu/bab/des/digest/ch1/dig.html)

White, A. 1983. *Principios de Bioquímica*. 6ta. ed. McGraw Hill. España. pp. 1198.

Wilkerson, V.A., Klopfenstein T.J., and Stroup W.W., 1995. Collaborative study of In Situ forage protein degradation. *Journal of Animal Science*, vol.73. pp. 583-588.

Williams, A.P. 1988. *HPLC in Food Analysis*. 2a. ed. R MacRae Academic Press. London y New York. pp. 441-470.

Wisman and Engel. 1961. Tannery by-product meal as a source of protein for chicken. *Poult. Sci.* 40. pp. 6.

Yang C. & Sepúlveda,G. 1985. Separation of Phenylthiocarbamyl Amino Acids by High Liquid Chromatography on Spherisorb Octadecylsilane Columns. Journal of Chromatography. Vol 346. pp. 413-416.

Zuchowski, J. 1983. Effect of technological parameters on the quality of feed protein produced from raw hide wastes.

