

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Actividad férrica-proteica de harina de *Eisenia foetida*
“lombriz californiana” a diferentes concentraciones en
“ratones albinos”. Ayacucho-2010**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR:

Bach. CALDAS CAMASI, GIOVANA ALBINA

AYACUCHO – PERÚ

2011

*A DIOS, que es la fuente de mi sabiduría,
por darme el don de vivir, la fuerza para
seguir adelante.*

*A mis queridos padres, ejemplo de
trabajo, sacrificio y justicia; como eterno
reconocimiento y gratitud por sus esfuerzos
inagotables en el logro de mi profesión.*

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por haberme acogido durante mi vida estudiantil; forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a todos los docentes que laboran en ella por su invaluable apoyo académico.

Al Laboratorio de la OFICRI-IX-DIRTEPOL-Ayacucho por ser testigo mudo del desarrollo experimental de mi trabajo de investigación.

A mis asesores Mg. QF. José Manuel Diez Macavilca, Mg. QF. Edwin Carlos Enciso Roca y QF. Néstor Arones Huayta por el asesoramiento, sugerencias y apoyo incondicional en la culminación del trabajo de investigación.

ÍNDICE

RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Eisenia foetida	7
2.2.1. Clasificación taxonómica <i>Eisenia foetida</i>	8
2.2.2. Aspectos generales	8
2.3. Proteínas	11
2.4. Aminoácidos	16
2.5. Minerales en nutrición humana	17
III MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Ubicación	24
3.2. Materiales	24
3.2.1. Población	24
3.2.2. Muestra	24
3.2.3. Unidades experimentales	24
3.3. Diseño metodológico	25
3.3.2. Diseño experimental	34
3.4. Análisis Estadístico.	36
IV. RESULTADOS	37
V. DISCUSIÓN	43
VI. CONCLUSIONES	48
VII. RECOMENDACIONES	49
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	

Actividad férrica-proteica de harina de *Eisenia foetida* “lombriz californiana” a diferentes concentraciones en “ratones albinos”. Ayacucho 2010.

Autor: Bach. Giovana Albina, CALDAS CAMASI.

Asesor: Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de la Oficina de Criminalística de la PNP-Ayacucho entre los meses de mayo y noviembre del 2010, con el objetivo comprobar la actividad férrica-proteica de harina de *Eisenia foetida* “lombriz californiana”.

Se empleo 50 “ratones albinos” machos, usando el diseño con estímulo creciente; dividido en cinco grupos de 08 ratones cada uno: T1 - harina de yuca 30 g, T2 - harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g, T3 - harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g, T4 - harina de yuca 10 g + caseína 20 g y T5 harina de yuca 10 g + ratonina 20 g como control, durante 30 días. Se determinó la proteína y el hierro en harina de lombriz por el método de Kjeldhal y gravimetría, las proteínas plasmáticas por el método de Gornall, hierro sérico por colorimetría; y el peso y longitud de los ratones con balanza y regla respectivamente. La harina de lombriz presentó un 67.52% de proteínas y hierro 2.6%. Se logró un incremento en la relación peso y longitud de 14.52 g y 2.10 cm con harina de *Eisenia foetida* a 20 g, la diferencia con la harina de yuca fue de 3.18 g y 1.20 cm, un incremento en la medida de proteína plasmática y hierro sérico 6.31 g /100ml y 59.02 µg/dL, en relación con la harina de yuca que presentó una disminución de 4.20 g/100mL y 50.93 ug/dL respectivamente. Se concluye que la harina lombriz mejora los niveles férrico-proteicos a la concentración de 20 g respectivamente.

Palabras clave: Harina de lombriz, actividad férrica-proteica.

I. INTRODUCCIÓN

La desnutrición crónica en niños menores de 5 años es uno de los problemas de salud pública que sigue afectando a los países en vías de desarrollo, como es el caso del Perú. Según el Instituto Nacional de Estadística e Informática, la prevalencia de la desnutrición crónica en niños menores de 5 años a nivel nacional es de 24.1%, del cual el 39% se ubica en las zonas rurales. Siendo uno de los factores causantes la ingesta inadecuada de nutrientes (INEI, 2006). Al analizar la pobreza, mientras en la zona urbana del país el 19,2% de la población es pobre, en la zona rural es el 54,0% (INEI, 2009). Esta problemática es muy notoria en regiones pobres, y de manera especial en aquellas poblaciones afectadas por la pobreza extrema, donde el acceso a las proteínas de alto valor biológico y hierro es escaso. A esta situación se suma el acelerado crecimiento poblacional y la consecuente escasez de recursos nutrientes, indispensables para satisfacer las necesidades de esta población en constante crecimiento (Olivares y col., 1994). La desnutrición está ligada a la pobreza, también intervienen otros factores como la prevalencia de enfermedades infecciosas en los niños, la inseguridad alimentaria, la deficiente educación, las prácticas inadecuadas de alimentación por las familias en general. A esto se suma, en el área rural, la poca diversificación de los cultivos (OPS, 2001). En

este contexto, uno de los nutrientes considerados críticos, debido a su importancia y alto costo, son las proteínas (Moreno, 2008).

Las recomendaciones de proteínas de los organismos internacionales (FAO/OMS/ONU/, 1995) corresponden a proteínas de alto valor biológico cuyo consumo, es deficiente; son reemplazadas por otras de bajo valor, como es el caso de las proteínas de origen vegetal, cuya utilización por el organismo se encuentra disminuida porque contienen uno o más aminoácidos limitantes (Ólivares y col., 1994). Al respecto, en el II Informe Nacional sobre Seguridad Alimentaria (2002), se ha reportado que en el Perú se ha logrado cubrir los requerimientos proteicos mínimos, con una tendencia general creciente cuyo principal aprovisionamiento proviene de proteínas de origen vegetal y en los últimos años se ha dado un ligero incremento de las proteínas de origen animal, (Ministerio de Agricultura, 2002).

El hierro es un micronutriente indispensable para el transporte celular de oxígeno y para la producción oxidativa de energía celular en forma de ATP. La deficiencia de hierro afecta adversamente el rendimiento cognitivo, el comportamiento y el desarrollo físico de los niños; el estado de la inmunidad y la morbilidad a partir de infecciones de todos los grupos de edad. (Dallman, 1999).

Una de las principales causas de la deficiencia de hierro es la baja ingesta de alimentos fuente de hierro, si a esto le añadimos un bajo consumo de alimentos que favorecen la biodisponibilidad de hierro y el alto consumo de alimentos que inhiben su absorción. (Bender, 2003).

En este contexto y orientados a mejorar el aporte nutricional de proteínas de alto valor biológico y hierro en las zonas de bajos recursos económicos, se viene usando las de origen animal no convencional; como Lombriz Roja California (*Eisenia foetida*) cuya crianza permite obtener carne de alto valor nutritivo. Al respecto, la carne de lombriz ha sido utilizada en la alimentación animal y

humana debido a su alto contenido de proteínas (60-80%), buena proporción de aminoácidos, presencia de ácidos grasos esenciales y micronutrientes como el hierro y el calcio (Alarcón y col., 1995).

En relación al consumo humano de la lombriz, se ha reportado que su carne se ha incorporado como un complemento nutricional en países orientales tales como Japón, Filipinas, Taiwán, África y China. Por otro lado en el Amazonas se ha reportado que al menos 32 comunidades usan animales terrestres invertebrados como fuente alimenticia no sólo rica en proteínas, sino también en grasas y micronutrientes (García y col., 1997).

Esta fuente de nitrógeno de elevada calidad biológica satisface los requerimientos para niños entre dos y cinco años exigido por la FAO/OMS (Segovia, 1996).

Los objetivos del presente trabajo son:

Objetivo General

❖ Evaluar la actividad férrica-proteica de la harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana" probada en dos concentraciones en ratones albinos

Objetivos Específicos

❖ Determinar los porcentajes (%) de proteínas, hierro, humedad, ceniza y características organolépticas de la harina de *Eisenia foetida* obtenida.

❖ Comparar la variación de peso y longitud de los ratones albinos en los diferentes tratamientos.

❖ Comparar la variación de los niveles de hierro y proteína sérica en los ratones albinos en los diferentes tratamientos.

❖ Determinar la actividad férrica- proteica de la harina de *Eisenia foetida* en dos concentraciones.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En nuestro país no existe un plan estratégico que orienta la investigación y utilización en forma sistemática de los recursos animales no convencionales que tengan como meta su aplicación práctica. Desde tiempos muy antiguos se conoce los beneficios de las lombrices. Los primeros en descubrir sus bondades fueron los sumerios hace 3.000 años A.C. Los antiguos egipcios conocían las propiedades fertilizantes de las lombrices, gran parte de la fertilidad en el valle de Nilo dependía de la actividad recicladora de nutrientes de estos animales. Los antiguos romanos también supieron valorar el poder biofertilizante de las lombrices. Los principales hitos que se han reportado sobre el conocimiento y uso de las lombrices, datan desde los tiempos de Aristóteles (384 - 322 A .C.), quien definió a las lombrices como "Intestinos de la tierra", apareciendo en notas asiáticas, indias y europeas. En el año 1881 el naturalista y fisiólogo Inglés Charles Darwin (1809-1882) plasmó su experiencia de 40 años de estudio y trabajo con las lombrices en el libro titulado "La Obtención de Tierra Vegetal por Acción de las Lombrices", en el que se exponen estudios profundos sobre la crianza, hábitat, sistema de recolección de lombrices, así como el rol ecológico de estos invertebrados en la naturaleza, facilita la absorción de los elementos fertilizantes de manera inmediata. Tiene capacidad de taponamiento, por lo que

en su presencia los terrenos ligeramente ácidos o básicos, tienden a neutralizarse (Popovic y col., 2005).

En 1920, se reportaron datos que sostienen apariciones de la lombriz como alimento humano; en este mismo año se trajeron las lombrices de Europa, empezando su uso en las labores agrícolas de Argentina, a través del suizo Albert Roch; quien desarrolló técnicas eficaces para la crianza y reproducción de las mismas. Ya en el año 1936 se inició la crianza de lombrices como técnica, con el Dr. Tomas Barret, quien después de 10 años de estudio publicó su libro "Utilización de la lombriz de tierra" destacando, que toda ciudad puede tener en el campo un criadero de lombrices alimentados con desperdicios de cocina, los cuales producirían gran cantidad de excelente abono (Aguilera, 2004).

A partir de los años 50, se reportó que en California se empezaron a usar un tipo de lombriz denominada Lombriz Roja de California o *Eisenia foetida*, la cual ofrecía mayores ventajas para la crianza. En 1984 se inició la exportación de lombrices californianas a cargo del argentino Kim Gagliardi, reconocido como el precursor de la lombricultura comercial. En la segunda mitad del año 1980 se da la mayor expansión del uso de las lombrices en Sudamérica (Chile, Ecuador, Perú, Colombia, Argentina y Brasil). Mientras que en España, Italia, Australia, India, Estados Unidos de América y Canadá se mantenía y extendía su uso, así como el interés por el estudio de estos anélidos (Ferruzi, 1987).

En el Perú, se exhibió por primera vez la crianza de las lombrices en la Feria Internacional del Pacífico, realizada en la ciudad de Lima en noviembre de 1986. Instalándose posteriormente criaderos en Chancay (Lima) y Ucayali (Pucallpa). Poco después se extendió la crianza en todo el país. Actualmente se ha difundido la técnica en Huancayo, Tarapoto, Cerro de Pasco (Paica y Huariaca), Piura, Cusco, Arequipa, Huaraz, Ayacucho, Tacna y Lima. Ya en 1991, se

informó que existían 35 criadores de lombrices establecidos en el Perú, que conducían criaderos de entre 210 y 400 lechos (de 30 m²c/u) (Núñez, 1995).

Actualmente, se puede encontrar un listado de lombricultores en distintos países del mundo, en tesis, en documentales y otros documentos, donde se resalta su gran importancia en el campo ecológico, agrícola y medicinal, mientras que en el campo nutricional, se menciona a la carne de lombriz por su alto valor proteico y contenido de aminoácidos, por lo que éstas han sido estudiadas y utilizadas en la preparación de alimentos balanceados para animales (García, 1997).

En un proyecto presentado en la Feria Escolar de Ciencia y Tecnología auspiciada por el Ministerio de Educación y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú, alumnas del colegio Belén de Osma y Pardo (Andahuaylas-Apurímac) en colaboración con la Estación Ecológica San Jerónimo propusieron la elaboración de harina de lombriz, denominándola Sistema Nutricional Complejo y Equilibrado con el objetivo de incluirlo en la alimentación balanceada de niños de escasos recursos económicos, elaborando cápsulas de harina de lombriz recomendadas como suplementos proteicos para humanos (Citado por Segovia, 1995).

En otro estudio titulado: "Nutritional and Toxicological Evaluation on Rats of Earthworm (*Eisenia foetida*) Meal as Protein Source for Animal Feed" se concluyó que la harina de lombriz representa una fuente de proteína de alto valor biológico por los índices de razón proteica neta, donde no se encontró diferencia significativa al ser comparada con la caseína. Así también; se reportó la deficiencia relativa de triptófano y no se encontró efecto negativo del uso de la harina de lombriz en la salud de las ratas, que fueron evaluadas hasta su cuarta generación (Ibáñez y col., 1991).

Vielma y col., (2003) realizó un estudio "Preliminar de los niveles de ácidos grasos de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) mediante cromatografía de gases

acoplada a espectrometría de masas”; concluyendo que las muestras de harinas de lombriz *Eisenia foetida* obtenidas por liofilización y secado en estufa, se caracterizaron por presentar dieciséis ácidos grasos, los cuales fueron identificados por cromatografía de gases mediante comparación de sus espectros de masas. Es importante resaltar que se logró identificar el ácido araquidónico el cual es considerado un ácido graso esencial porque el doble enlace ubicado en el carbono 6 del metilo terminal es una posición estratégica para la actividad de algunas enzimas. La harina de lombriz constituye una fuente no convencional importante de ácidos grasos esenciales.

Vielma y col., (2003) evaluó el “Valor nutritivo de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatografía en fase reversa (HPLC) y derivatización precolumna con o-ftalaldehído (OPA)”; la harina de lombriz obtenida por liofilización (HL) y secado en estufa (HSE) se caracterizó por un elevado contenido en proteínas (62,28 y 61,81% p/p, respectivamente) como era de esperarse.

Curi, (2006) reportó la “Determinación biológica de la calidad proteica de harina de lombriz *Eisenia foetida*”; concluyendo corresponden a proteínas de alto valor biológico por los índices de razón proteica neta obtenidos.

2.2. *Eisenia foetida*

A nivel mundial, existen 3000 especies de lombriz de tierra, que han sido divididas de acuerdo a sus características en dos grupos: lombrices silvestres o comunes y las lombrices domesticadas. Dentro del segundo grupo, destaca la Lombriz (*Eisenia foetida*) o comúnmente conocida como lombriz roja de California (Aguilera, 2004). Son saprófagas, ya que son capaces de alimentarse y metabolizar desechos biodegradables de todo tipo, desde detritus orgánico hasta coprolitos animales, herramienta biotecnológica (Ferruzzi, 1987).

2.2.1. Clasificación taxonómica *Eisenia foetida*

Eisenia foetida "lombriz californiana", tiene la siguiente taxonomía sistemática según Lund, 1987 (Ferruzzi, 1987).

REINO	: Animalia.
TIPO	: Anélido.
CLASE	: Oligochaeta.
FAMILIA	: Lumbricidae
GENERO	: Eisenia
NC	: <i>Eisenia foetida</i>

Fuente: Constancia emitida por el Área de Recursos Naturales y Ecología Laboratorio de Zoología de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 02)

2.2.2 Aspectos generales

2.2.3 Características morfológicas

A.-Morfología Externa:

La lombriz es un gusano cilíndrico, alargado, ligeramente aplanado en la parte ventral y cónica en la parte anterior. Anatómicamente la lombriz (*Eisenia foetida*), es la división del cuerpo en segmentos o anillos. En varios segmentos se repiten órganos corporales como musculatura, nervios e incluso órganos de excreción y gónadas, el único sistema no afectado es el digestivo, ya que se extiende atravesando cada uno de los segmentos. En el extremo anterior tiene un lóbulo redondeado, llamado prostomio, detrás y debajo del mismo se abre la boca, rodeada por el primer anillo denominado peristomio. Carecen de ojos y el último segmento del cuerpo se denomina pidigio o abertura anal. En el primer tercio, posee una protuberancia o ensanchamiento denominado clitelio o clitelium, cuya aparición representa la madurez sexual de las lombrices y cumple importantes funciones en el proceso reproductivo. Finalmente las lombrices recién nacidas

son de color crema y miden 1 mm. A los 90 días las lombrices se encuentran en la etapa de madurez y son rojizas, pueden alcanzar una longitud de 5-8 cm., su diámetro oscila entre 3-5mm., pesan aproximadamente 1g. y su cuerpo está constituido por un total de 95-200 anillos o somitos, así mismo en esta etapa las lombrices se encuentran aptas para la reproducción (Buxade, 1997).

B.- Morfología Interna:

La lombriz tiene una pared corporal conformada, de afuera hacia adentro, por una cutícula externa que le permite el intercambio gaseoso, la permeabilidad al agua, así como; la transmisión de impulsos sensitivos. Luego se encuentra la epidermis, donde se encuentran células nerviosas con receptores luminosos sensitivos especializados en reaccionar al pH y a la temperatura, también se encuentra el sentido del tacto y órganos gustativos, que le permiten distinguir entre los diferentes sustratos alimenticios, así mismo por la epidermis la lombriz realiza la función de respiración. Posteriormente se encuentran las capas fibrosas musculares, peritoneo y finalmente se encuentran los órganos de los sistemas circulatorios (cinco pares de corazones), nervioso y muscular que se encuentran dentro del celoma. El líquido celómico se junta con la sangre y transportan el alimento, los desechos y los gases respiratorios de la lombriz, también cumple la función de locomoción y es considerado como un esqueleto hidráulico contra el cual actúan los músculos para cambiar la forma del cuerpo.

El aparato digestivo es de forma tubular y forma una buena parte del cuerpo de la lombriz, está conformado por la cavidad bucal, La faringe es el principal órgano de ingestión, que funciona como una bomba succionadora, cuyas paredes poseen glándulas que producen secreción salival, que contienen sustancias mucosas y enzimas que permiten humedecer y predigerir el alimento. El esófago posee glándulas calcíferas encargadas de neutralizar la acidez de la materia vegetal, posteriormente; y sin mayor modificación, pasa al buche, donde

el alimento puede ser almacenado temporalmente y se realiza el humedecimiento y ablandamiento preliminares. Finalmente, el intestino forma el resto del aparato digestivo, en la mitad anterior del intestino se da la secreción y digestión, mientras que en la mitad posterior ocurre la absorción. Por otro lado, la lombriz es una especie hermafrodita incompleta que contiene los dos aparatos reproductores pero no se puede fecundar sola. El aparato reproductor masculino comprende dos pares de testículos alojados en el segmento 10 y 11 mientras que el aparato reproductor femenino, está formado por un par de ovarios alojados en el anillo 13 (Rodríguez, 2005).

2.2.4 Importancia de la lombriz (*Eisenia foetida*)

a).- Agricultura y Ecología: El uso de las lombrices permiten la transformación de desechos orgánicos de origen animal y vegetal, en un abono orgánico de alta calidad y bajo costo que mejora el estado de los suelos, así mismo actúa como hormona de crecimiento vegetal y tiene un efecto plaguicida, un potente fertilizante natural que no deteriora el medio ambiente y a su vez disminuye los costos de producción agrícola (Aguilera, 2004).

b).-Industria Farmacéutica: Se han utilizado las lombrices para preparar sustancias medicinales para calmar la debilidad post parto, síntomas del reumatismo, tos crónica, diarrea y también se habría usado como antipirético y antibiótico. Así mismo, se reporta que a nivel industrial se han elaborado, antidotos y constrictores vaso sanguíneos (Sharma, 2005). A partir del líquido celomático, se ha producido antibióticos de uso humano para combatir entre otras cosas enfermedades como el tifus (Recalde, 1997). Se obtuvo del tejido de la lombriz (*Eisenia foetida*), un producto denominado Glycolipoprotein G-90, el cual exhibió una actividad antibacterial sobre las bacterias patógenas facultativas, lo cual representa un hallazgo importante que

podría ser de interés en el campo de la medicina veterinaria y humana (Popovic, 2005).

d).- Alimentación: Debido a la alta tasa de reproducción y longevidad de la lombriz (*Eisenia foetida*), su crianza permite obtener un excedente poblacional importante, que puede ser convertido en carne o harina, considerada como fuente de proteína de origen animal de alta calidad (Aguilera, 2004). Así mismo, se usó la harina de lombriz para suplementación de dietas para la alimentación de truchas arco iris, pollos (Núñez, 1995).

2.2.5 Carne y harina de lombriz (*Eisenia foetida*)

La carne se define, en relación a su proceso de elaboración, como el producto obtenido después del sacrificio, purga y lavado cuidadoso de las lombrices frescas. Mientras que la harina se ha definido como el producto seco y molido obtenido de la carne desecada. Comparando la harina, con las normas referidas a la harina de pescado para consumo humano dadas por el grupo de supervisión de proteínas FAO y UNICEF, la harina de lombriz sería definida como un producto con mayor contenido de proteínas y de aminoácidos esenciales así como el alto contenido de ácidos grasos esenciales y sin limitación de olor y sabor, pero elaborado a partir de lombriz fresca (Rodríguez, 2005).

2.3. Proteínas

En 1838 el químico holandés Gerrit Jan Mulder dio el nombre de proteínas a las sustancias que contenían nitrógeno (Gómez, 1997).

El nombre deriva del griego "proteicos" o "protos" que significa de primera importancia (Plummer, 1981). Se pueden definir como polímeros formados por la unión, mediante enlaces peptídicos, de unidades de menor masa molecular llamadas aminoácidos, los cuales podríamos considerar como los "ladrillos de los edificios moleculares proteicos" (Williams, 2002). Consisten en cadenas lineales de aminoácidos caracterizadas por la subestructura $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$.

hemoglobina al oxígeno, las enzimas a sus sustratos, los reguladores de la expresión génica al ADN, las hormonas a sus receptores específicos, etc. (Serra, 2006).

2.3.5. Deficiencia de las proteínas

Una dieta errónea que aporta pocas proteínas y demasiados carbohidratos pueda producir kwashiorkor (edema, tendencia a las infecciones, hígado graso, retraso del crecimiento), situación que es más frecuente entre niños del tercer mundo.

Las lesiones cutáneas extensas (quemaduras) también pueden producir pérdida por exudación (Lehninger, 1990).

2.4. Aminoácidos

Del griego Ammon = dios egipcio cerca de cuyo templo se prepararon por primera vez las sales de amonio a partir de estiércol de camello. Cada aminoácido posee por lo menos un grupo funcional amino (básico) y un grupo funcional carboxilo (ácido) y difiere de otros aminoácidos por la composición de su grupo R (Peña, 1990).

Desde el punto de vista químico sería posible la existencia de un gran número de aminoácidos, sin embargo, en la naturaleza se encuentran una veintena de ellos (Plumber, 1981).

Son sustancias cristalinas, casi siempre de sabor dulce; tienen carácter ácido como propiedad básica y actividad óptica; químicamente son ácidos carbónicos con, por lo menos, un grupo amino por molécula (Gómez, 1997).

Los aminoácidos que un organismo no puede sintetizar y, por tanto, tienen que ser suministrados con la dieta se denominan aminoácidos esenciales; y aquellos que el organismo puede sintetizar se llaman aminoácidos no esenciales.

2.4.1. Lista de aminoácidos esenciales y no esenciales

A.- Esenciales

Llamado así porque no pueden ser sintetizados por nuestro cuerpo (el resto si) y deben obtenerse a través de la alimentación y son : Valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, metionina, treonina, lisina, triptófano, histidina (Lehninger, 1990).

B.- No esenciales

Son importantes; si no se encuentran en las cantidades adecuadas, pueden sintetizarse a partir de los aminoácidos esenciales o directamente por el propio organismo y son: Arginina, alanina, prolina , glicina, serina , cisteina , asparagina , glutamina ,tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico (Peña, 1990).

2.5. Minerales en nutrición humana

Son necesarios en pequeñísimas cantidades, para mantener la salud en óptimas condiciones. Los minerales que necesita nuestro cuerpo los podemos dividir en macroelementos, (sodio, potasio, fósforo, cloro, calcio, magnesio y azufre), y microelementos, (hierro, cobre, iodo, manganeso, etc.) (Gibson, 1990). Doce son los minerales a tenerse en cuenta en nutrición humana; de ellos solamente a seis se les asigna una ingestión recomendable en la actualidad estos son: calcio, fósforo, magnesio, hierro, cinc y iodo (Serra, 2006).

2.6. Hierro

El hierro es el metal de transición más abundante en el universo, y el cuarto elemento en frecuencia en la corteza terrestre. Se encuentra naturalmente en el suelo, formando parte de diversos minerales, en el agua y en muchos alimentos (Fernández, 1990).

En soluciones acuosas puede encontrarse en dos estados de oxidación estables: ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}), propiedad que les permite participar en reacciones que abarcan gran parte de la bioquímica (Bothwell y col., 1989).

Su capacidad como aceptor y dador de electrones, por su conversión entre el estado ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}), lo convierte en un importante cofactor de muchas enzimas de óxido-reducción y proteínas involucradas en el transporte de oxígeno (Aster, 2005).

2.6.1. Antecedentes históricos

La coexistencia del hierro con el hombre desde el comienzo de la historia de la humanidad, ha llevado al hombre a darle distintos usos, que van desde la forja del hierro, hasta su utilización como medicamento, ya que formó parte de las recetas médicas más antiguas, como en el papiro de Eber en Egipto, 1500 años A.C., donde el óxido férrico era utilizado como ungüento para el tratamiento de la calvicie, o en Grecia, 1200 años A.C., donde era mezclado con vino como tratamiento de la impotencia masculina. Recién en el siglo XVI, se relacionó la deficiencia de hierro con una enfermedad llamada "enfermedad verde", que afectaba a las mujeres adolescentes y cuyos síntomas eran decaimiento, cansancio y palidez. La primera persona en utilizar el hierro como medicamento específico en el tratamiento de la clorosis (anemia ferropénica) fue Sydenham (Castro, 1995).

Lemery y Geoffroy (1873), demostraron por primera vez que el hierro se encontraba presente en las cenizas de la sangre, relacionando directamente a este tejido con dicho metal, estableciendo de esta manera las bases científicas en la terapéutica de su deficiencia. En 1832 el médico francés Pierre Blaud inició el tratamiento de la clorosis mediante la administración de hierro por vía oral, utilizando una píldora compuesta por sulfato ferroso y carbonato de potasio, la cual fue denominada "píldora de Blaud". Sin embargo, Bunge, uno de los primeros científicos en cuantificar el hierro del organismo y de muchos alimentos, menospreció la píldora de Blaud, ya que al analizar las heces de las personas que consumían dichas píldoras encontró hierro en las mismas, interpretando

que el hierro de las píldoras no se absorbía. Además, como consecuencia de las teorías vitalistas imperantes en esa época, Bunge creía que ninguna forma de hierro inorgánica podía ser precursor de la sangre. Si bien la teoría de Bunge fue atacada por numerosos científicos antes que acabara el siglo, en 1920 volvió a tener vigencia cuando Whipple y colaboradores demostraron que el hígado cocido era más eficaz que el carbonato ferroso en la regeneración de la sangre (Beard y Piñero, 1997).

McCance y Widdowson (1937), comenzaron los primeros trabajos sobre balance de hierro, sugerían una absorción y eliminación limitadas de este metal. El mismo año, Heilmeyer y Plotner midieron las concentraciones plasmáticas de hierro y postularon su mecanismo de transporte. Estos estudios fueron completados por Laurell en 1947, quien denominó transferrina a la proteína plasmática de transporte de hierro, nomenclatura utilizada en la actualidad. Recién en 1943, con el advenimiento de las técnicas nucleares aplicadas al estudio del metabolismo humano, Hahn y colaboradores, mediante la utilización de isótopos radioactivos del hierro, pudieron cuantificar su absorción y demostraron la capacidad reguladora que posee la mucosa intestinal en la absorción de este metal, y en 1950, Huff y colaboradores, completan estos estudios determinando la distribución, el metabolismo y el balance del hierro en el organismo humano, conceptos que siguen vigentes en la actualidad (Castro, 1995).

2.6.2. Distribución de hierro en el organismo

La cantidad de hierro total en el organismo es de unos 40 a 50 mg/Kg de peso corporal. Este valor es variable y depende de diferentes factores como la edad del individuo, el sexo, el tipo de alimentación y el tejido u órgano estudiado, ya que el hierro no se distribuye homogéneamente en el cuerpo humano (Beard y Piñero, 1997).

Desde el punto de vista funcional, el hierro en el organismo puede estar formando parte de dos grandes grupos, el compuesto de hierro esencial integrado fundamentalmente por la hemoglobina, mioglobina, citocromos y diferentes enzimas y el compuesto de hierro de depósito o almacenamiento como la ferritina y la hemosiderina (Aster, 2005).

El hierro total del organismo oscila entre los 2.000 mg como límite mínimo en mujeres y puede llegar hasta 6.000 mg en los hombres, el 60-70% forma parte de la hemoglobina (3,4 mg/g de hemoglobina), otro 15% forma parte de la mioglobina y las enzimas, del 20 al 30% está en los depósitos (hepatocitos) y una pequeña cantidad 0,2% (3-5 mg) es hierro circulante unido a la transferrina (Peña, 1990).

2.6.3. Fuentes de hierro

Para comprender el metabolismo del hierro, es necesario conocer en primer término, como se encuentra en los alimentos, ya que los mismos son la fuente primaria y natural de este mineral y la forma en que se encuentre este elemento es un factor primario en el metabolismo de este vital mineral (Lynch, 1997).

En los alimentos, el hierro se encuentra formando parte de dos grupos diferentes, uno hierro hémico y otro hierro no hémico. El hierro hémico, es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal (Vaquero, 1998).

El hierro no hémico corresponde a aquel hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; básicamente está formado por sales inorgánicas de este metal y el mismo se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, como así también en la mayoría de los preparados (Castro, 1995).

2.6.4. Absorción del hierro

Sólo una pequeña proporción del total del metal ingerido es absorbida (aproximadamente el 10%). La absorción del hierro ocurre en el duodeno y yeyuno superior del sistema gastrointestinal. En el estómago, si bien no se produce la absorción de este elemento, el mismo contribuye a dicho proceso, a través de la secreción de ácido clorhídrico y enzimas (Lynch, 1997). Una vez que el hierro es absorbido por los enterocitos de la mucosa intestinal, éste pasa al plasma donde es transportado por la transferrina a los diferentes tejidos y órganos (Castro, 1995).

2.6.5 Biodisponibilidad de hierro en el alimento

Se entiende por biodisponibilidad la proporción de un nutriente en un alimento o dieta, que es capaz de absorberse y utilizarse para funciones metabólicas normales o para acumularse (Vaquero, 1998).

El hierro mejor utilizado por el organismo, es el que proporcionan los alimentos en forma hemo y no el inorgánico. El hierro más abundante en las dietas que puede llegar hasta el 80% del total de hierro alimentario es en forma no hémica. En cambio el 20-30% del hierro absorbido es de forma hemo y menos del 15% es hierro inorgánico, que es el que puede ser manipulado en la dieta para ser absorbido.

Existen factores que facilitan la absorción del hierro no hémico, y se dividen en facilitadores, que son los péptidos que se liberan durante la digestión de los alimentos proteicos y se combinan con el hierro; forman complejos solubles y que si el medio es ácido se mantienen solubles y se favorece la absorción. Las sales ferrosas, formas reducidas se absorben mejor que las formas férricas, formas oxidadas (Lynch, 1997).

Entre los activadores de la absorción se encuentran sustancias como el ácido ascórbico, que produce no solo la reducción del hierro a su forma ferrosa, sino

también su quelación, manteniendo de esta forma al hierro soluble y biológicamente disponible para ser absorbido (Castro, 1995).

La carne también produce un aumento en la absorción del hierro, pero el mecanismo por el cual ocurre aún no ha sido claramente establecido (Williams, 2002).

2.6.6 Funciones bioquímicas y fisiológicas

Las principales funciones biológicas que posee el hierro, se basan en sus propiedades oxido-reductoras, ya que los estados de oxidación del hierro van desde -2 a $+6$, la interconversión entre estos estados de oxidación, le otorgan a este elemento propiedades fisicoquímicas particulares que le permite participar en la transferencia de electrones, así también la de unirse en forma reversible a diferentes ligandos, como los átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre. Esta característica le confiere a este elemento propiedades biológicas especiales, que le permite participar en un gran número de procesos bioquímicos, generalmente a través de su asociación con diversas biomoléculas, especialmente las proteínas, muchas de las cuales poseen actividad enzimática (Peña, 1990).

Estas características particulares del hierro, sumadas a la gran variedad y diversidad de estructuras biológicas a las cuales se encuentra asociado, hace que este elemento intervenga en múltiples y vitales procesos bioquímicos y fisiológicos como por ejemplo: el transporte y almacenamiento de oxígeno a través de la hemoglobina; en el metabolismo muscular, al formar parte de la mioglobina que permite el pasaje del oxígeno desde los eritrocitos a las mitocondrias del músculo. Bajo la forma de hemo, forma parte del sitio activo de los citocromos, los que intervienen en múltiples y variadas vías metabólicas como las relacionadas con el metabolismo energético, con el sistema enzimático microsomal P-450, el que participa en la síntesis de diversos esteroides como la aldosterona, corticosterona, pregnenolona, vitamina D3, etc. Este sistema

también interviene en la degradación de distintos metabolitos, drogas, fármacos y diferentes sustancias tóxicas. Por otra parte, el hierro, al formar parte de casi todas las oxidasas de los mamíferos, demuestra la variedad de procesos metabólicos y fisiológicos en los cuales este elemento está involucrado (Williams, 2002).

2.6.7 Deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro se produce cuando los requerimientos del organismo exceden los aportes. En aquellas situaciones en que existe escaso hierro disponible, se producen limitaciones en la síntesis de compuestos fisiológicamente activos que lo contienen y, por lo tanto, surgen consecuencias deletéreas. Por ejemplo, cuando el hierro incorporado resulta insuficiente para la síntesis de hemoglobina, sobreviene anemia ferropénica (Peña, 1990).

Las causas que pueden conducir a la deficiencia de hierro involucran cuatro factores principales: pérdida de sangre; dieta deficiente o inadecuada; aumento de la demanda (embarazo) y mala absorción (patologías gastrointestinales) (Williams, 2002).

Bajo condiciones de deficiencia de hierro, su absorción intestinal también se incrementa como consecuencia de distintas adaptaciones (Lynch, 1997).

2.6.8 Monitoreo del hierro sistémico

Se consideran varios parámetros para conocer el estado de los depósitos de hierro en los individuos. Como base, se toman los valores de la concentración plasmática de hierro (ferremia), la ferritina plasmática y los valores de la transferrina plasmática y su saturación (Anexo 01) (Williams, 2002).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Química y Toxicología Forense de la Oficina de Criminalística de la Policía Nacional del Perú, ubicado en Jirón 28 de Julio Nº 318 – (Ayacucho) y Dirección de Criminalística de la Policía Nacional, ubicado en avenida Aramburú Nº 550 - (Lima), entre los meses de mayo a noviembre del 2010.

3.2 Materiales

3.2.1 Población

Lombrices de la especie *Eisenia foetida* “lombriz californiana” en un estado de madurez, criadas en el Programa de Pastos y Ganadería de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.2.2. Muestra

9 Kg, *Eisenia foetida* “lombriz californiana” en un estado de madurez, (3 meses), con una longitud y peso promedio de 8,5 cm y 0,45 gramos respectivamente.

3.2.3 Unidades experimentales

50 ratones albinos (macho), de 15 a 16 g de 2 a 3 meses de edad, en buenas condiciones de salud del animal, con alimentación y agua ad libitum, adquiridos del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos - Lima).

3.3 Diseño metodológico

3.3.1. Obteñición de la carne de lombriz

❖ La limpieza y selección se realizó de forma manual y visual, donde se separó las lombrices maduras (presencia de clitelio) y ausencia de heridas o fraccionamientos en las mismas.

❖ Se realizó purgado; objetivo de este procedimiento fue obtener lombrices con la menor cantidad de residuos alimenticios gástricos posibles, para lo cual, se las dejó por 8 horas sin alimento para que de manera natural las lombrices utilicen el alimento contenido en su aparato digestivo.

❖ Las lombrices se sometieron a sucesivos lavados con abundante agua potable fría (4 - 5 lavados), con el fin de quitarles todos los residuos de estiércol y vegetales adheridos a las mismas, así como los mismos desechos producidos por las lombrices. Todo el proceso duró 3 horas. Es importante que las lombrices permanezcan vivas a lo largo del proceso.

❖ Sacrificio; se sumergió a las lombrices en un recipiente de plástico, conteniendo una solución de NaCl al 4% (40 g de sal por litro) que cubría toda la superficie de las lombrices, donde murieron al cabo de 20 min. El impacto que produce esta solución salina les genera un shock que hace que secreten el fluido celomático de un color amarillo y olor fuerte.

❖ Se lavo las lombrices con el fin de quitarle la sal, contenido y el olor del fluido amarillento. De este proceso se obtuvo la materia prima lista para ser convertida en harina de lombriz.

3.3.2 Obtención de la harina de lombriz

❖ Se extendió la carne de lombriz (materia prima), colocadas en bandejas de metal para su secado sobre papel cebolla hasta sequedad a temperatura ambiente.

❖ La carne de lombriz seca es molida en una licuadora, con la finalidad de reducirla hasta un polvo fino, luego con un tamiz de 0.125 mm de diámetro se separa los restos celulares. se obtuvo un producto homogéneo un total de 850g. de harina preparada de color pardo con un olor característico.

❖ La harina de lombriz, se almacenó en un recipiente de vidrio hermético a una temperatura ambiente.

3.3.3 Parámetros bromatológicos de la harina (Tabla N° 03)

Una vez obtenida la harina, son evaluadas los parámetros bromatológicos que definan la calidad de los mismos, que a continuación señalamos:

A.- Determinación de las características organolépticas

a.- **Color:** Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, esta es colocada en un fondo blanco, se observa y determina el tipo de color.

b.- **Olor:** Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se percibe y se determina el tipo de olor.

c.- **Sabor:** Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y se determinó el tipo de sabor.

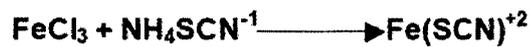
d.- **Aspecto:** Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto (AOAC, 1990).

B.- Determinación del contenido de humedad

Se pesa 3 g. de la muestra de ensayo con desviación permisible de 0.5 mg y se transfiere a una luna de reloj previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante, seguidamente se deseca a 105 °C en una estufa durante 2 horas, se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa (AOAC, 1990).

Cálculo:

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2} \times 100$$



- Determinación Cuantitativa de hierro por gravimetría

El análisis gravimétrico depende de medir un peso, para determinar la cantidad de analito en la muestra, la pureza química y la homogeneidad del material que se pesa es la limitante de la precisión de los análisis gravimétricos.

Determinación de hierro como óxido férrico

Fundamento

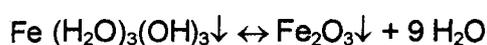
La gravimetría es una de las pocas técnicas absolutas de análisis que existe, por lo que es extremadamente importante. Se basa en provocar la separación de un componente mediante una precipitación. Esta operación de precipitación requiere el cumplimiento de las siguientes condiciones.

La precipitación debe ser cuantitativa.

Sólo debe precipitar el componente deseado (selectividad)

El producto final debe tener una fórmula definida.

En el caso que nos atañe, se trata de precipitar el hierro en forma de óxido hidratado $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x (\text{H}_2\text{O})$ (forma de precipitación). Como reactivo precipitante se utilizará el NH_3 diluido (1:1) Como medio de filtración empleamos papel gravimétrico (o de cenizas conocidas), procurando efectuar una separación previa por decantación. Como líquido de lavado se emplea una disolución de NH_4NO_3 . La calcinación se hará a temperaturas comprendidas entre 800 y 1000° C, obteniendo como producto final Fe_2O_3 (forma de pesada). Las reacciones implicadas son:



La concentración de hierro en la muestra, se determina a partir de la masa de Fe_2O_3 originada y de la relación estequiométrica entre Fe y Fe_2O_3

Técnica operatoria

Calcinar la harina en un crisol de porcelana en la mufla, enfriarlo en un desecador y pesarlo.

❖ Pesar al 0,1 mg de sustancia problema pase a un beaker de 400 mL, disuelva en 40 ml de agua.

❖ Agregar 10 mL de HCl (1:1) y 3 mL de $\text{HNO}_3(c)$, calentar la solución hasta ebullición, obtener una solución de color amarillo claro.

❖ Llevar la solución a 200 mL y calentar hasta ebullición suavemente, agregar con la ayuda de una varilla de vidrio solución de amoníaco (1:1), hasta percibir un ligero exceso.

❖ Hervir suavemente por un tiempo mínimo de 1 minuto y dejar sedimentar el precipitado.

❖ Una vez haya sido sedimentado la mayor parte del precipitado, decantar el líquido sobrenadante a través de un papel de filtro bien adaptado al embudo,

❖ Lavar el precipitado tres o cuatro veces por decantación con nitrato de amonio al 1% en caliente usando 75 a 100 ml cada vez.

❖ Lavar el precipitado sobre el filtro con nitrato de amonio caliente hasta que el precipitado se elimine los cloruros verificando con AgNO_3 5%.

❖ Doblar el borde del papel de filtro y colocarlo en un crisol de porcelana pesado. Calentar el crisol con llama de mechero para eliminar el agua, teniendo cuidado de evitar expulsiones súbitas de vapor que producirían pérdidas de precipitado. Carbonizar el papel y quemar el carbón a la menor temperatura posible.

❖ Llevar a mufla y calcinar a 1000 °C, durante 35 minutos

❖ Dejar enfriar el crisol por debajo del rojo y colocarlo tapado en un desecador.

- ❖ Después de 30 minutos a 1 hora pesar el crisol y su contenido.
- ❖ Repetir la calcinación hasta pesada constante utilizando periodos de calentamiento de 10 a 15 minutos (AOAC, 1990).

$$\%Fe = \frac{\text{Gramos producto}}{\text{Gramos muestra}} \times \text{factor gravimétrico} \times 100$$

3.4 Determinación de la actividad férrica-proteica

• Preparación de dietas

Las materias primas que se utilizaron para la preparación de las dietas, fueron los siguientes: harina de yuca (basal-vehículo), caseína (Estándar), ratonina (blanco) y harina de lombriz (muestra).

Se preparo 5 dietas, correspondientes a cinco tipos:

T1: Harina de yuca 30 g (Y).

T2: Harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g (Y + L1).

T3: Harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g (Y + L2).

T4: Harina de yuca 10 g + caseína 20 g (Y + C).

T5: Harina de yuca 10 g + ratonina 20 g (Y + R).

• Administración de la dieta

La administración de la dieta se inició con un período de alimentación basada en harina de yuca; con el fin de proporcionar nutrientes limitados durante 14 días. Después de los 14 días se dividió aleatoriamente a los ratones en 5 grupos, con las dietas ya generadas anteriormente.

- ❖ La administración del alimento, ofrecida fue a frecuencia de tres veces por día (a las 8:00, 12:00 y 16:00 horas); en una dosis de 10 g por comida. Conjuntamente con agua. Las cuales se realiza cada semana, realizándose, durante 4 semanas.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Diseño experimental completamente Randomizado. Se consta de cinco tratamientos; (10 y 20 g) de harina de lombriz, con un Vehículo harina de yuca y con estándares caseína y ratonina como blanco, ajustado a un diseño de bloques que está constituida por los lotes de ratones de los que se analizaron la longitud, peso, proteína plasmática y hierro sérico en cuatro tiempos diferentes (1, 2, 3, 4) Semanas.

Tabla Nº 03. Diseño experimental de los tratamientos y lotes

Lotes	TRATAMIENTOS				
	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V
	Harina de yuca 30 g (Y). Basal-vehículo	Harina de yuca 20g + harina de lombriz 10 g (Y + L1). Muestra	Harina de yuca 10g + harina de lombriz 20 g (Y + L2). Muestra	: Harina de yuca 10g + caseína 20 g (Y + C). Estándar	Harina de yuca 10g + ratonina 20 g (Y + R). Blanco
LOTE 1	R2	R2	R2	R2	R2
LOTE 2	R2	R2	R2	R2	R2
LOTE 3	R2	R2	R2	R2	R2
LOTE 4	R2	R2	R2	R2	R2

3.6 Evaluación de la longitud, peso, proteína plasmática y hierro sérico

3.6.1 Medición de peso y longitud.- Para la evaluación de peso se utilizó una balanza analítica eléctrica. Así mismo se hizo, uso de una regla de 20 cm, para medir la longitud de los animales, la cual se midió en posición horizontal de la punta de la nariz a la cola.

Antes de iniciar el consumo de la dieta se evaluó el peso y talla de los animales, con la finalidad de tener un diagnóstico inicial, posteriormente se tomó el control de ganancia de peso semanal (cada 7 días), teniendo un total de 5 registros de peso por cada animal evaluado (Tabla Nº 14).

-Recolección de muestra de sangre

Se sacrificaron los ratones por decapitación, se recoge la sangre en tubos; se tomaron las muestras de sangre utilizando jeringas de tuberculina, donde se trata de tomar toda la cantidad de sangre posible en un aproximado de 3 mL; se recepciona en tubos de ensayo dividido en 1.5 mL en dos tubos; uno con anticoagulante (heparina) para determinar proteínas y otro para hierro sérico se recepciona sin anticoagulante.

A.- Determinación de proteína plasmática por el método de Gornall

Fundamento.- En la formación de un complejo coloreado (violáceo) entre los iones cúpricos del reactivo y el enlace peptídico de la proteína, reacción que transcurre en medio alcalino de la siguiente manera:

- ❖ Se centrifugó la sangre con anticoagulante (heparina) por 15 minutos a 3500 rpm, luego se separó el plasma para proseguir con el análisis.
- ❖ En un tubo de ensayo se colocó 0.1 mL de plasma, 1.9 mL de solución salina y 8.0 mL de reactivo de Gornall.
- ❖ Se prepara el blanco con solución salina 1.9 mL y reactivo de Gornall 8.0 mL.
- ❖ Luego se llevó a baño maría a 37 °C, dejándose que se desarrolle el color violáceo durante 15 minutos.
- ❖ Se enfrían los tubos de ensayo, introduciendo la gradilla en el agua a temperatura ambiente. Un par de minutos es suficiente.
- ❖ Se hizo la lectura en el espectrofotómetro a 540 nanómetros.
- ❖ Para el cálculo; se multiplica la absorbancia por el factor 29.7, para expresarse en g/100 mL de plasma.

B.- Determinación de hierro sérico método colorimétrico para determinación de hierro sérico sin desproteinización (Wiener Lab.)

Fundamento.- El Hierro sérico se libera de su unión con su proteína transportadora específica, la transferrina, en un buffer succinato de pH 3.7 y en

presencia de un reductor, el ácido mercaptoacético. Posteriormente reacciona con el reactivo, piridil bis-fenil triazina sulfonato (PBTS), dando un complejo color magenta (rojo), que se mide a 560 nm.

El procedimiento se realizará de la siguiente manera:

- ❖ Se centrifugó la muestra de sangre sin anticoagulante para obtener el suero por unos 20 minutos a 3,500 rpm.
- ❖ Luego con una pipeta se separa el suero o el sobrenadante a un tubo de almacenamiento para realizar las diferentes pruebas.
- ❖ En un tubo de ensayo marcados B (Blanco reactivo), S (Standard) y M (Muestra) se añadirá los reactivos distribuidos de acuerdo a las indicaciones.
- ❖ Leer la absorbancia, llevando a cero el aparato con agua destilada.
- ❖ Agregar el reactivo PBTS a cada tubo una gota se mezcla y leer todos los tubos entre 6 a 20 minutos a 560 nm.

Cálculos de los resultados:

Corregir las lecturas de S Y D, restándolos los blancos correspondientes:

$$S-B = S \text{ corregido} \quad \longrightarrow \quad D-(B+BS) = D \text{ corregido}$$

$$Fe \text{ (ug/dl)} = D \text{ corregido} * f$$

Donde:
$$f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{S \text{ corregido}}$$

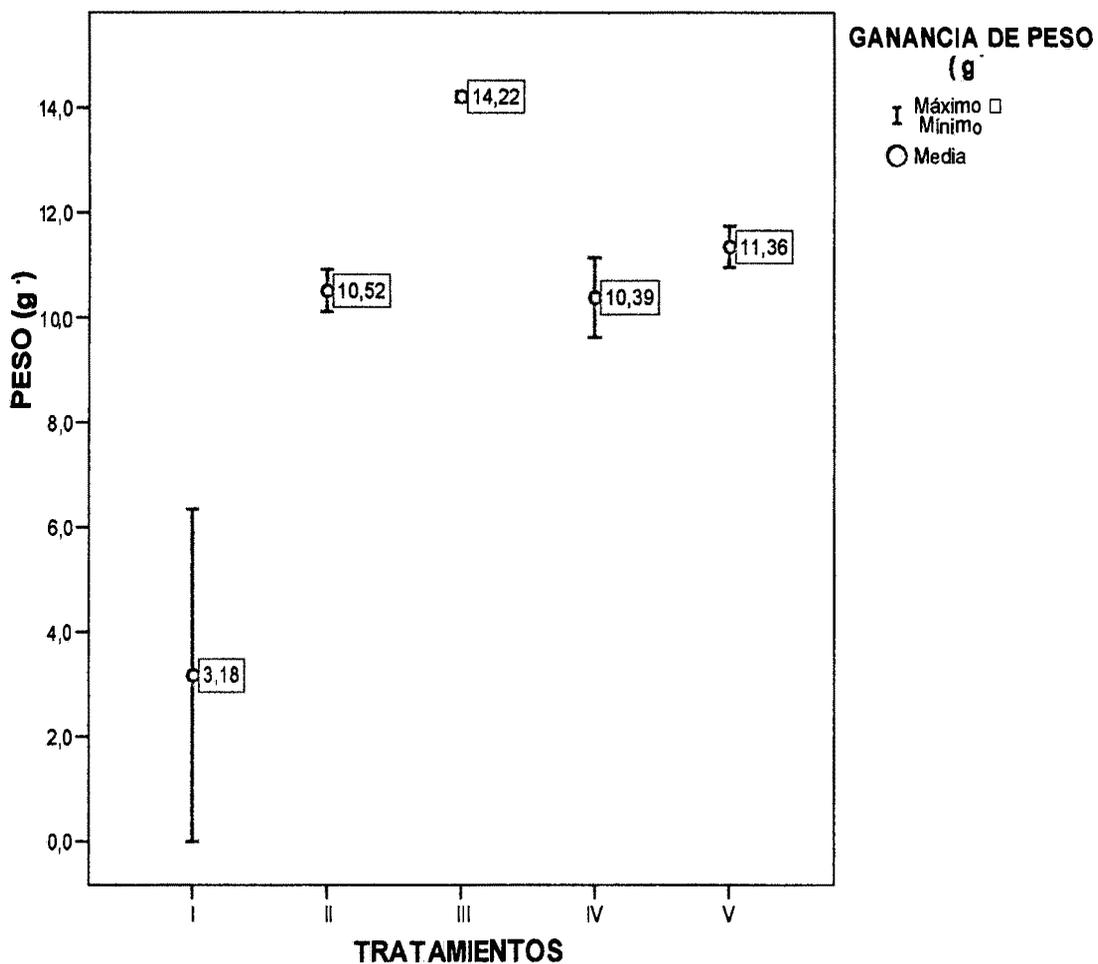
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el procesamiento de datos se empleó el estadístico SPSS versión 15. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos empleadas fue evaluada a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0.05. Las comparaciones entre cada tratamiento a través de la prueba de Tukey. Los resultados se expresaron en cuadros y gráficos.

IV. RESULTADOS

Tabla N° 04: Algunos parámetros bromatológicos de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana". Ayacucho 2010.

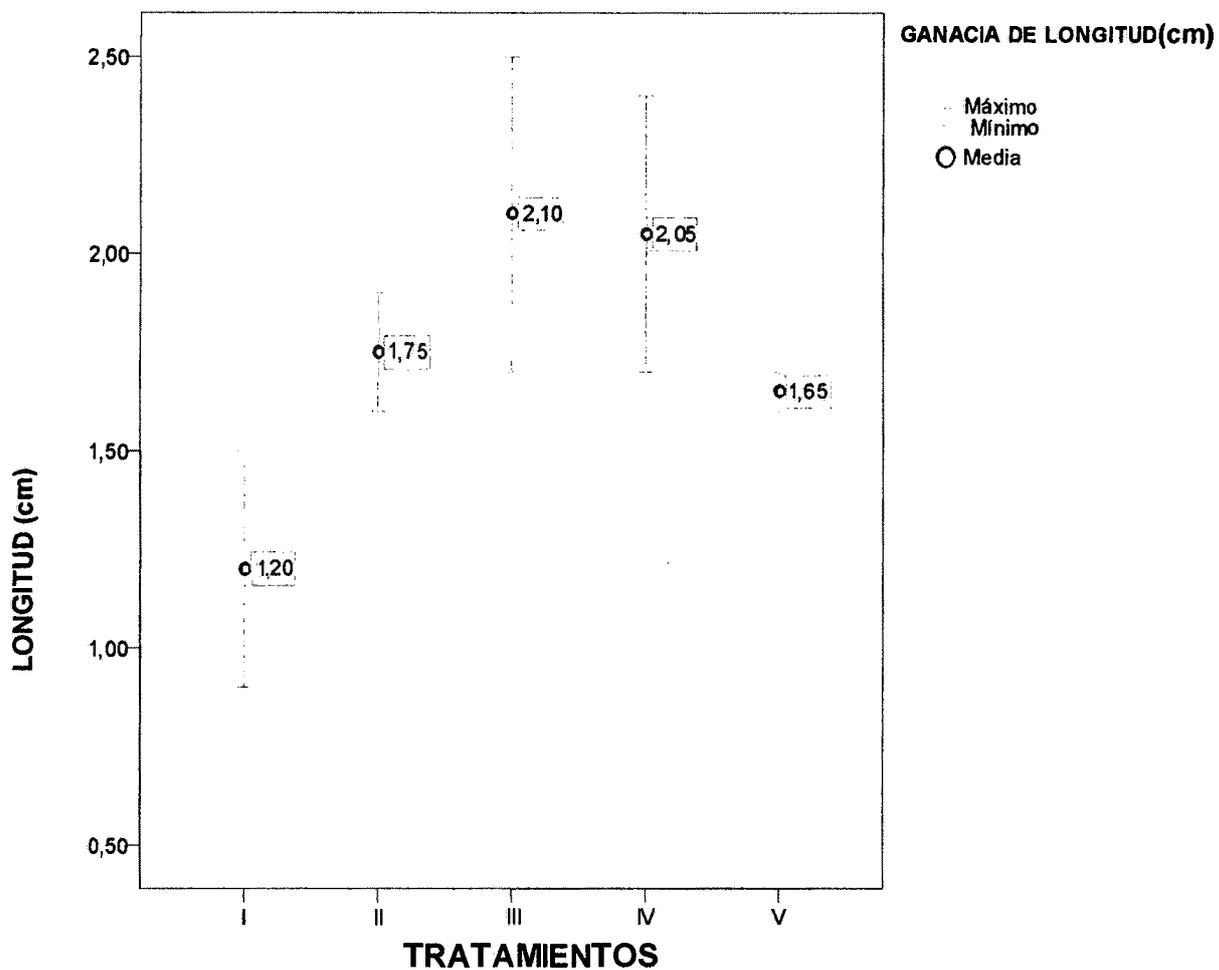
PARÁMETROS	ENSAYOS	RESULTADOS
ORGANOLÉPTICO	Color	Pardo claro
	Olor	característico
	Sabor	Ligeramente dulce y ácido
	Aspecto	Suave al tacto
HUMEDAD	Perdida por desecación	6,63%
CENIZAS	Cenizas totales	8.98%
PROTEINAS	Kjeldahl	67.52%
HIERRO	Gravimetria	2.6% -26 mg/100 g



P<0.05

- I: Harina de yuca 30 g
- II: Harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g
- III: Harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g
- IV: Harina de yuca 10 g + caseína 20 g
- V: Harina de yuca 10 g + ratonina 20 g

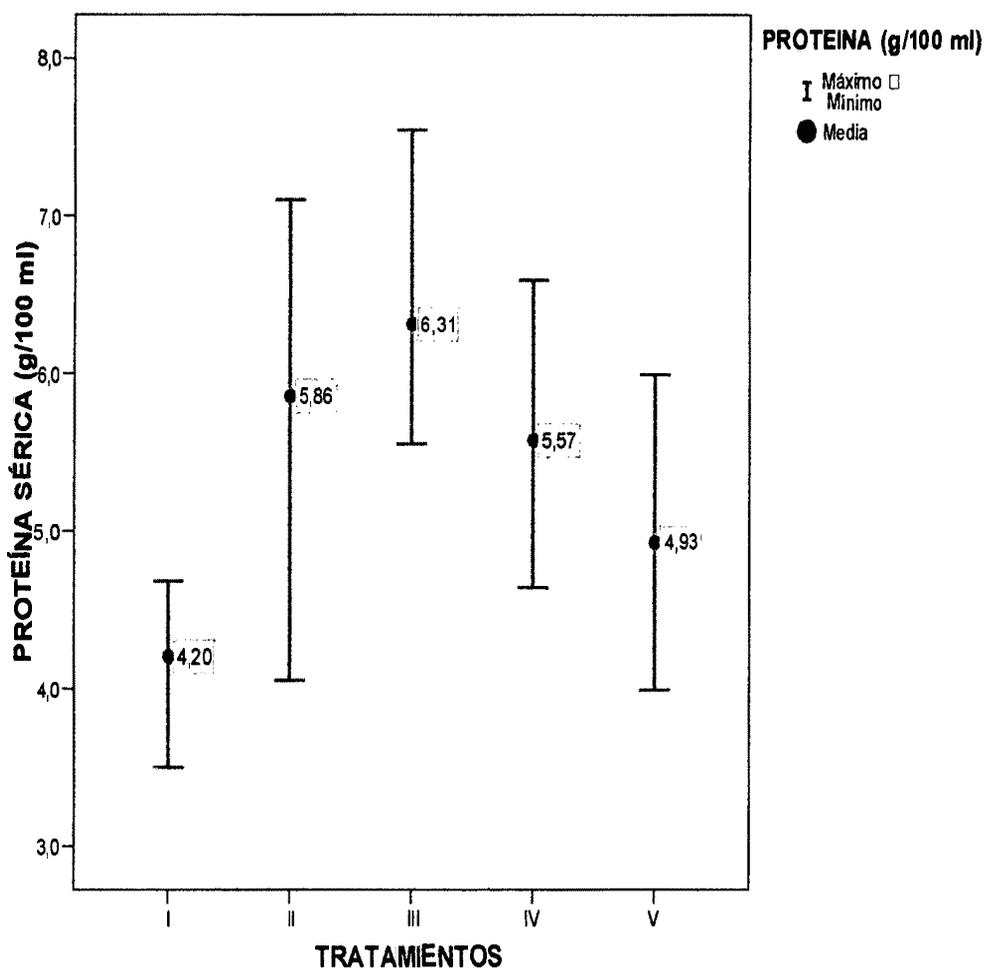
Gráfico N° 01.- Variación de peso de los ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana". Ayacucho-2010.



P>0.05

- I: Harina de yuca 30 g
- II: Harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g
- III: Harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g
- IV: Harina de yuca 10 g + caseína 20 g
- V: Harina de yuca 10 g + ratonina 20 g

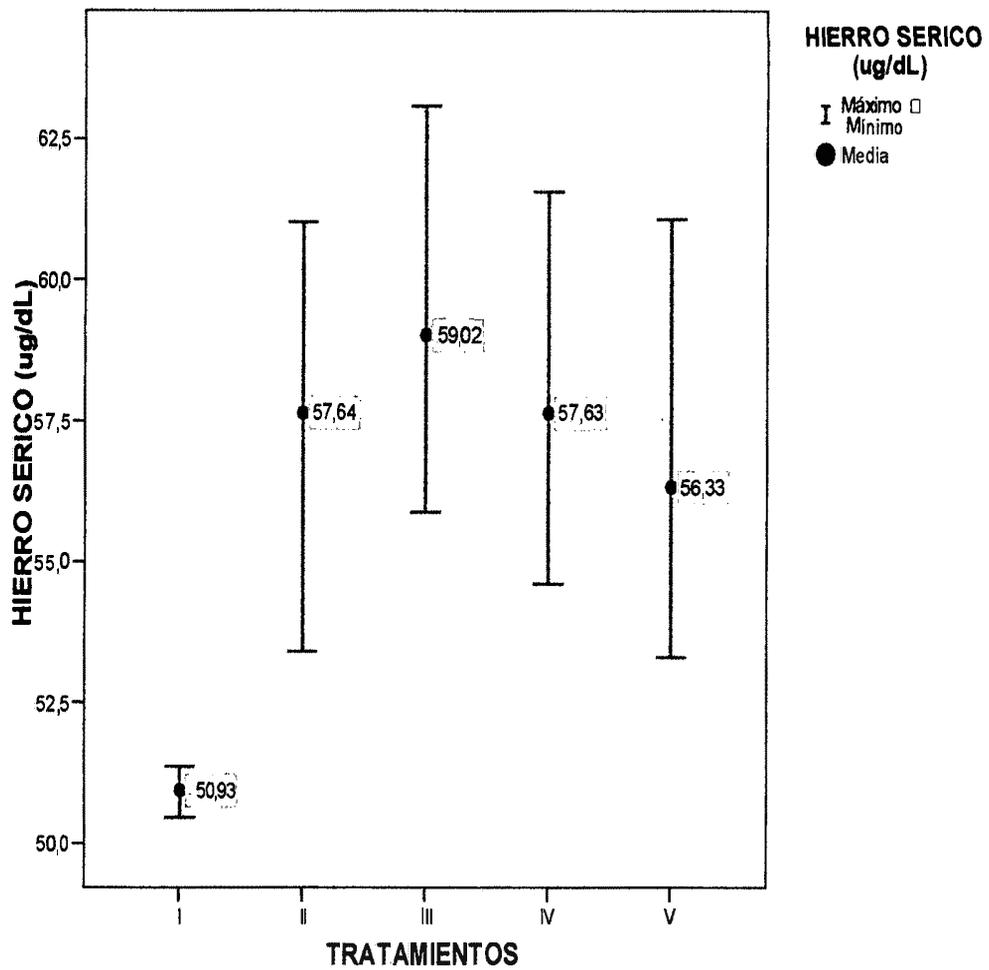
Gráfico N° 02.- Variación de longitud de los ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana". Ayacucho-2010.



$P < 0.05$

- I: Harina de yuca 30 g
- II: Harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g
- III: Harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g
- IV: Harina de yuca 10 g + caseína 20 g
- V: Harina de yuca 10 g + ratonina 20 g

Gráfico N° 03.- Variación de los valores promedios de proteína plasmática en ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana" Ayacucho-2010.



P<0.05

- I: Harina de yuca 30 g
- II: Harina de yuca 20 g + harina de lombriz 10 g
- III: Harina de yuca 10 g + harina de lombriz 20 g
- IV: Harina de yuca 10 g + caseína 20 g
- V: Harina de yuca 10 g + ratonina 20 g

Gráfico N° 04.- Variación de los valores promedios de hierro sérico en ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana". Ayacucho-2010

V. DISCUSIÓN

La malnutrición, principalmente por deficiencia proteica y de hierro es uno de los más graves problemas que afectan actualmente a la humanidad, por ello, es de constante interés la búsqueda de productos nutricionales accesibles a la mayoría de la población general, así como a grupos con requerimientos particulares como personas seniles, gestantes o convalecientes de enfermedades debilitantes crónicas (Olivares y col., 1994). En los últimos años se está produciendo una tendencia de rápido crecimiento mundial hacia la revalorización de los conocimientos sobre uso de productos naturales de origen animal y vegetal, por sus posibles efectos beneficiosos medicinales o nutricionales. La Organización Mundial de la Salud ha estimado que casi 80% de la población del planeta sustenta el cuidado de su salud en métodos tradicionales (Moreno, 2008).

Se considera que el conocer la ingesta dietaria de hierro y proteínas en los pobladores, su condición de pobreza y sus conocimientos sobre alimentos fuente de hierro y proteínas, evaluar si existe relación entre estas variables, constituye una base de información importante para establecer programas de intervención educativo nutricional y políticas de salud orientadas a la disminución de la deficiencia de hierro y proteínas por ende, a la disminución de la anemia ferropénica y desarrollo físico y capacidades cerebrales. De esta manera, se

contribuye a la mejora del estado nutricional de la población y de su descendencia (FAO/OMS, 2005).

En la Tabla N° 04 se presenta los parámetros bromatológicos de harina de *Eisenia foetida*. Donde las características organolépticas corresponden a un producto homogéneo de color pardo claro y olor característico, similar al percibido en los productos marinos, sabor ligeramente dulce, el porcentaje de humedad es de 6.63% y las cenizas totales es de 8,98% que entra dentro del rango obtenido por Ibáñez (1991) con 7.3% y 8.4% y Vielman (2003) con 11.3% y 8.98%. Las proteínas y el hierro total en base seca fueron aproximadamente de 67.52% y 2.6% - 26 mg/100 g respectivamente. Comparando los resultados de proteínas con la bibliografía los valores entran dentro del rango reportado por Ferruzi (1988) con 68% y 82% y por encima de Vielman (2003) con 62.28%. De la cual se concluye que al poseer un bajo porcentaje de humedad notamos un alto porcentaje de proteínas. Mientras que el hierro se encuentra por debajo del rango reportado por Vielman (2003) con 103.83 mg/100 g, que fue secada en estufa y liofilizada.

En el Gráfico N° 01, se representa la variación de peso de los ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *eisenia foetida*, donde se obtiene un incremento de 14.22 g y 10.52 g en ratones alimentados con harina de lombriz de 20 g y 10 g, mientras 3.18 g con harina de yuca 30 g, mientras 10.39 g con caseína de 20 g (estándar) y 11.36 g con ratonina de 20 g.

Estos resultados al ser sometidos a la prueba de análisis de varianza, demuestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) (Tabla N°07), por lo que podemos afirmar que el incremento de peso está relacionada con la dieta que se consume los ratones. Los resultados nos indican, que si uno se alimenta solo a base de carbohidratos, como lo notamos en la harina de yuca el incremento de peso es mínima, en cambio en la harina de lombriz se presenta una mayor incremento

debido a la presencia de proteínas, carbohidratos y en su defecto también grasas, en la caseína se presenta un ligero incremento pudiendo atribuírsele a la proteína, por lo que, se explica este incremento a la harina de lombriz y en la ratonina, que es un alimento balanceado se nota también un incremento de peso significativo.

Como se sabe, la función primordial de la proteína es producir tejido corporal y sintetizar enzimas, algunas hormonas como la insulina, que regulan la comunicación entre órganos y células, desempeñan labores relacionadas con el metabolismo –asimilación de nutrientes, transporte de oxígeno y grasa a la sangre. También cumplen la función de aportarnos energía - entre un 10 y 15% de la energía total consumida (Serra, 2006). Se sabe que al realizar el aporte de preparados de hidrolizados de proteínas a los recién nacidos con bajo peso, han demostrado utilidad, teniendo en cuenta mayor aumento de las concentraciones de aminoácidos esenciales en el plasma y en la ganancia de peso corporal al compararlo con lactancia materna exclusiva (Mc Donald, 2006), por lo que, podemos pensar que también las proteínas juegan un papel importante en el incremento de peso. Los resultados dados por la prueba Tukey (Tabla N° 08), notamos que uno de los tratamientos difiere, pero que no existe una influencia de las concentraciones de 10 y 20 g de la harina de lombriz en el incremento de peso respectivamente.

En el Gráfico N° 02, se representa la variación de longitud de los ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *eisenia foetida*, donde se obtiene una ganancia de 2.10 cm y 1.75 cm en ratones alimentados con harina de lombriz de 20 g y 10 g, mientras 1.20 cm con harina de yuca 30 g, mientras 2.05 cm con caseína de 20g (estándar) y 1.65 cm con ratonina de 20 g.

Estos resultados al ser sometidos a la prueba de análisis de varianza, demuestra que no existe diferencia significativa ($p>0.05$) (Tabla N° 07), por lo que

podemos afirmar que el incremento de longitud no está relacionado directamente con la dieta que se consume los ratones. Estos resultados nos muestran que la longitud no tiene relación directa con las proteínas consumidas. Como se sabe, la función primordial de la proteína es producir tejido corporal y sintetizar enzimas, algunas hormonas como la insulina, que regulan la comunicación entre órganos y células, y otras sustancias complejas, que rigen los procesos corporales (Serra, 2006). Los resultados dados por la prueba Tukey (Tabla N° 09), notamos que los tratamientos no difieren, por lo que no existe una influencia de las concentraciones de 10 y 20 g de la harina de lombriz respectivamente.

La síntesis o formación de tejido corporal requiere del aporte de proteínas, por lo que un suministro inadecuado, especialmente en animales jóvenes, etapa de mayor demanda proteica, produce un crecimiento retardado y menor eficiencia en la utilización de los alimentos (Mc Donald, 2006).

Los resultados sugieren que esta fuente no tradicional podría considerarse como alimento complementario durante el período de crecimiento.

En el Gráfico N° 03, se representa la variación de los valores promedios de proteína plasmática en ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida*, donde el mayor valor promedio del nivel de proteína plasmática es de 6.31 g/100 mL y 5.86 g/100 mL en ratones alimentados con harina de lombriz de 20 g y 10 g, mientras 4.20 g/100 mL con harina de yuca 30 g, mientras 5.57 g/100 mL con caseína de 20 g (estándar) y 4.93 g/100mL con ratonina de 20 g.

Al ser sometidos a la prueba de análisis de varianza, demuestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) (Tabla N° 10), por lo que podemos afirmar que los niveles de proteína plasmática está relacionada con la dieta que se consume los ratones.

Esto quiere decir que los niveles de proteína plasmática manifiestan, una mejor respuesta a mayores niveles proteicos en la ración (Espinoza y Rojas, 2003).

Esto demuestran de que la harina de *Eisenia foetida*, presenta el conjunto de los aminoácidos esenciales solamente está presente en las proteínas de origen animal. Por la que, es de alta calidad biológica y es de fácil disponibilidad notándose su presencia en sangre.

Como se sabe, la función primordial de la proteína es producir tejido corporal y sintetizar enzimas, algunas hormonas como la insulina, que regulan la comunicación entre órganos y células, y otras sustancias complejas, que rigen los procesos corporales (Serra, 2006). Los resultados dados por la prueba Tukey (Tabla Nº 11), muestra que uno de los tratamientos difiere, por lo que existe una influencia de las concentraciones de 10 y 20 g de la harina de lombriz respectivamente. Los resultados sugieren que existe una buena digestibilidad al suministrarse como harina.

En el Gráfico Nº 04, se representa la varición de los valores promedios de hierro sérico en ratones albinos alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida*, donde el mayor valor promedio del nivel de hierro sérico es de 59.02 ug/dL y 57.64 ug/dL en ratones alimentados con harina de lombriz de 20 g y 10 g, mientras 50.93 ug/dL con harina de yuca 30 g, mientras 57.63 ug/dL con caseína de 20 g (estándar) y 56.33 ug/dL con ración de 20 g.

Estos resultados al ser sometidos a la prueba de análisis de varianza, demuestra que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) (Tabla Nº 12), por lo que podemos afirmar que los niveles de hierro sérico, está relacionada con la dieta que se consume los ratones.

Esto indica que el producto, presenta hierro de tipo hémico, que es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal de buena

biodisponibilidad (Vaquero, 1998), por lo cual se explicaría el aumento de hierro en sangre.

La prueba Tukey (Tabla N° 13), muestra que uno de los tratamientos difiere, pero de que no existe una influencia de las concentraciones de 10 y 20 g de la harina de lombriz respectivamente concentración sobre el incremento de hierro.

Se asume que el hierro contenido en la harina es de fácil disponibilidad, por lo que puede ser absorbido de acuerdo a la concentración y lograr incremento.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- La harina de *Eisenia foetida* demuestra tener una actividad férrica-proteica, expresado en el aumento de proteína y de hierro sérico en unidades experimentales.
- 2.- La harina de *Eisenia foetida*, tiene una humedad 6.63%, las cenizas totales 8,98%. Las proteína y hierro de la harina fueron 68.72% y 2.6%.
- 3.- La harina de *Eisenia foetida*, a la concentración de 20 g presentó el mayor incremento de peso y longitud obteniéndose valor promedio de 14.52 g y 2.10 cm a diferencia de los otros tratamientos, como el de harina de yuca que fue de 3.18 g y 1.20 cm respectivamente.
- 4.- La harina de *Eisenia foetida*, a la concentración de 20 g presentó los mayores promedios de hierro y proteínas como 59.02 ug/dL y 6.31 g/100 mL a diferencia de los otros tratamientos, como el menor de ellos con harina de yuca 50.93 ug/dL y 4.20 g/10 mL respectivamente
- 5.- Concluida la investigación se determinó que la harina *Eisenia foetida* a la concentración de 20 g presento la mejor actividad férrica-proteica.

VII. RECOMENDACIONES

- 1.-Realizar otros experimentos que complementen a los ya realizados como determinar el contenido de ácidos grasos en muestras de lombrices convertidas previamente en harina y también la toxicidad de la misma.
- 2.-Incorporar la harina de *Eisenia foetida* en preparaciones destinadas a el enriquecimiento de alimentos, debido al bajo costo, rica en proteínas, representa una buena alternativa para resolver la problemática nutricional humana.
- 3.-Realizar estudios de aceptabilidad en grupos vulnerables de la población, con el fin de investigar la posibilidad de utilizar la harina de *Eisenia foetida* en Programas de Complementación Alimentaria.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. **Aguilera, D.** 2004. Evaluación del Efecto de la Densidad Poblacional Inicial y Dos Ambientes sobre el Crecimiento de la Lombriz Roja Californiana (*Eisenia foetida*) en la IX Región. Tesis. Universidad Católica de Temuco. Chile.
2. **Alarcón, A., Cañazaca, M. y Cárdenas, C.** 1995. Efecto de la Harina de Lombriz Eisenia foetida en la Recuperación Nutricional de Ratas Albinas. Tesis. Arequipa. UNSA.
3. **AOAC.** 1990. Official methods of analysis of the association official analytical chemist 13 st ed. Washigton USA.
4. **Arnau, J.** 2006. T *Aminoácidos-metabolismo*. Sociedad Uruguaya de Pediatría, disponible en: http://www.alimentacion_sana.com.ar/informaciones/novedades/aminoacidos.htm - 77k
5. **Aster, J.** 2005 .Enfermedades de los hematíes y trastornos hemorrágicos en Kumar, Vinay et al; Robbins y Cotran: Patología Estructural y Funcional, Séptima edición.
6. **Barbado, J.** 2003. Cría de Lombrices; Primera Edición; Editorial Albatros. Argentina.
7. **Beard, J. y Piñero D.** 1997. Metabolismo del Hierro. Deficiencia de hierro. CESNI. Buenos Aires. Argentina. 13-47 p.
8. **Bender, A.** 2003. Diccionario de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Acribia S.A. España.
9. **Bothwell, T., Baynes, R., MacFarlane, B, MacPhail, A.** 1989. Nutritional iron requirements and food iron absorption. J Intern Med.Schumann K, Elsenhans B, Ehtechami C, Forth W. Rat. 9; 226:357-365. 35p
10. **Buxade, C.** 1997. Zootecnia Base de Producción Animal. Tomo XII, Primera edición. Editorial Mundi-prensa. España.
11. **Canales, M., Prada, A., Huamán, C, y Carbajal, L.** 2009. Evaluación nutricional de *Lepidium meyenii* (MACA) en ratones albinos y su descendencia
12. **Carrithers, J., Williamson, D., Gallagher, P., Godard, M., Schulze K, y Trappe S.** 2000. Effects of postexercise carbohydrate-protein feedings on muscle glycogen restoration. Vol. 88, Issue 6, 1976-1982.
13. **Castro, S.** 1995. Metabolismo del hierro normal y patológico. Segunda edición. Masson. Barcelona. España.

14. **Cheftel, J., Cheftel, H y Besançon, P.** 1989. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Ed. Acribia.
15. **Curi, K.** 2006. Determinación biológica de la calidad de proteica de harina de lombriz *Eisenia foetida*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis Facultad de Medicina, Escuela de Formación Profesional de Nutrición. Lima.
16. **Dallman, P.** 1999. Iron Deficiency and immune response. *Ani J Clin Nutr.* 46:329-34. P.
17. **Devlin, T.** 2004 Bioquímica libro texto con aplicaciones clínicas Cuarta Edición. Editorial Reverte.
18. **Divakaran, S.** 2003. Aprovechamiento de sangre animal. Boletín de Servicios Agrícolas No. 32, FAO. Roma.
19. **Espinoza, A.** 2003. Correlación entre consumo de alimentos e incremento de peso en cuyes de diferentes edades. En: XXIX Reunión APPA. Huancayo: Asociación Peruana de Producción Animal.
20. **FAO/OMS/ONU.** 2005 Evaluación de la calidad de las proteínas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición No. 60. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
21. **Fernández, H.** 1990. Elementos de grupo VIII. Química general e inorgánica. Ed. Losada. Buenos Aires. Argentina.
22. **Ferruzzi, C.**(1987. Manual de Lombricultura. Mundi Prensa. España.
23. **García, D., Oruña, L., Domínguez, H., Martínez, V. (1997).** Evaluación de la calidad Proteica de Harina de Lombriz (*Eisenia foetida*) en ratas de Crecimiento. Instituto de Investigaciones Porcinas La Habana Cuba.
24. **Gibson, R.** 1990. Principles of nutritional assessment. Oxford University Press. New York. USA.
25. **Gómez, R.** 1997. Dieta Práctica: base de la alimentación en las enfermedades. Segunda Edición Editorial RALP-España.
26. **Grupo Técnico para el Control de la Anemia.** Anemias Nutricionales: Boletín No. 3. Fortificación de alimentos con hierro. OPS. Lima, 1995.
27. **Hallberg, L., Rossander, L., Brune, M. y Gleerup, A.** 1992. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *Eur J Clin Nutr.* 46:317-327.
28. **Ibáñez, B., Herrera, C., Oyarzún, V. y Velásquez, B.** 1991. Harina de Lombriz, Obtención, composición química, funcional, perfiles electroforéticos

- y calidad bacteriológica de la carne y Harina de Lombriz "*Eisenia Foetida*".
Revista de la Facultad de Farmacia Chile, 37, 31-38.
29. **Instituto Nacional de Estadística e Informática.** (INEI). Encuesta Nacional Demográfica y de Salud Familiar - Continua. Perú 2006.
 30. **Instituto Nacional de Estadística e Informática.** (INEI). Encuesta Nacional de Hogares, Enaho, del Perú 2009.
 31. **Kirk, R. Sawyer, R. y Egan, H.** 1996. Composición y análisis de alimentos de Pearson, segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México.
 32. **Lehninger, L.** 1990. Bioquímica. Segunda edición. Ediciones Omega Barcelona.
 33. **Lynch, S.** 1997. Absorción de hierro: interacción con otros nutrientes. Deficiencia de hierro. CESNI. Buenos Aires. Argentina. 49-65p.
 34. **Mc Donald, P., Edwards, R., Greenhalzh, J. y Morgan, C.** 2006. Nutrición animal. 6ta ed. Edit Acribia. 587.
 35. **Moreno, R.**(2008. Nutrición y Dietética Para Tecnólogos de Alimentos. Díaz de Santos. España.
 36. **Ministerio de Agricultura** 2002. Informe Nacional Sobre la Seguridad Alimentaria en el Perú; 2000.
 37. **Núñez, M.** 1995. Utilización de la Harina de Lombriz de Tierra, *Eisenia foétida*, como sustituto de la harina de pescado en la Alimentación de post larvas de *Macrobrachinum Rosembergil*. Tesis. Universidad la Agraria la Molina. Lima.
 38. **Oliveros, S., Andrade, M. y Zacarias, I.** 1994. Manual de Autoinstrucción de Necesidades Nutricionales y Calidad de la Dieta. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Chile.
 39. **Organización Panamericana de la Salud (OPS).** Seguridad alimentaria y nutricional a nivel local. Manual de Investigación Cualitativa, 2001.
 40. **Peña, A.** (1990). Bioquímica. Segunda edición. Editorial Limusa. Mexico.
 41. **Popovic, M., Grđisa, M., Mihaela, T.** 2005. Glycolipoprotein G – 90 Obtained from the Earthworm *Eisenia foetida* exerts Antibacterial Activity. Veterinarski Arhiv; 75 (2): 119 – 128.
 42. **Plummer, D.** 1981. Bioquímica Práctica. Editorial Mc Graw-Hill. Latinoamericana. España.

- 43. Recalde, L.** 1997 www.monografias.com/trabajos10/lombri/lombri.shtml?relacionados 58k Monografias.com S.A.
- 44. Rodríguez, F.** 2005. Manual teórico práctico para el manejo comercial de la lombriz roja californiana. Editorial Quimera, Buenos Aires Argentina.
- 45. Sharma, A.** 2005. Potentiality of Earthworms for Waste Management and Other Uses-A Review. The Journal of American Science 1(1):4-16
- 46. Segovia E.** 1996. Obtención y Caracterización de la Harina de Lombriz (*Eisenia foetida*) para Consumo Humano. Tesis. Universidad Federico Villarreal. Lima
- 47. Serra, I.** 2006. Nutrición y salud pública: Métodos, bases científicas y aplicaciones.
- 48. Vaquero, M.** 1998. Factores que intervienen en la biodisponibilidad mineral. Prevención de las deficiencias. Revista de Nutrición Práctica 2:15-21p.
- 49. Vielma, R., Usubillaga, A., y Medina, A.** 2003. Estudio preliminar de los niveles de ácidos grasos de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Universidad los Andes Mérida. Tesis facultad de farmacia. Venezuela.
- 50. Vielma, R., Ovalles, J., León-Leal, A. Y Medina, A.** 2003. valor nutritivo de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatografía en fase reversa (HPLC) y derivatización precolumna con o-ftalaldehído (OPA).Universidad los Andes Mérida. Tesis facultad de farmacia. Venezuela
- 51. Williams, M.** 2002. Nutrición para la salud la condición física y el deporte. Editorial Paidotribo. Barcelona España.

VII. ANEXOS

Anexo N° 01

Tabla N° 05. Valores normales plasmáticos del perfil férrico en sangre en humanos

Valoración	Valores Normales
Ferremia $\mu\text{g/dl}$ (μM)	115 ± 50 (21 ± 9)
Transferrina Sérica $\mu\text{g/dl}$ (μM)	330 ± 30 (59 ± 5)
Saturación de la Transferrina	35 ± 15
Ferritina plasmática $\mu\text{g/L}$	100 ± 60

Fuente: Finch y col. (2007).

Tabla 06 N°: Composición nutritiva por 100 g de porción comestible de harina de yuca.

Harina de yuca	Proteína%	Grasa%	Carbohidrato %	Ceniza%	Humedad%
	1.4	0.2	86	1.9	15

Fuente: García (2005).

Anexo N° 02



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Área de Recursos Naturales y Ecología
Laboratorio de Zoología

PROTOKOLO DE IDENTIFICACION No. 005-2009-L2-AARNEC-FCB/L/UNSCB

ORDEN DE ANÁLISIS : 007-2009

SOLICITADO POR : Giovanna Albina CALDAS CAMAS

DIRECCION : E.P.P. Farmacia + Bioquímica

MUESTRA : Especímenes de anélidos

CANTIDAD : 15 individuos (50 g.)

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA : Camas de la agricultura - Programa de Pastos
Facultad de Ciencias Agrarias - UNSCB

FECHA DE RECEPCION : 01 de octubre de 2009

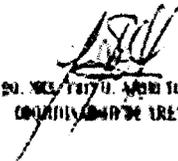
RESULTADO

PRUEBA	METODO	RESULTADO
Identificación de especies de Anélidos	Clave taxonómica dicotómica propuesta por Lund (1957)	GENERO : <i>Eisenia</i> ESPECIE : <i>foetida</i> N.C. : <i>Eisenia foetida</i>

OBSERVACIONES:

Sinonimia: *Eisenia foetida* Savignyi 1826

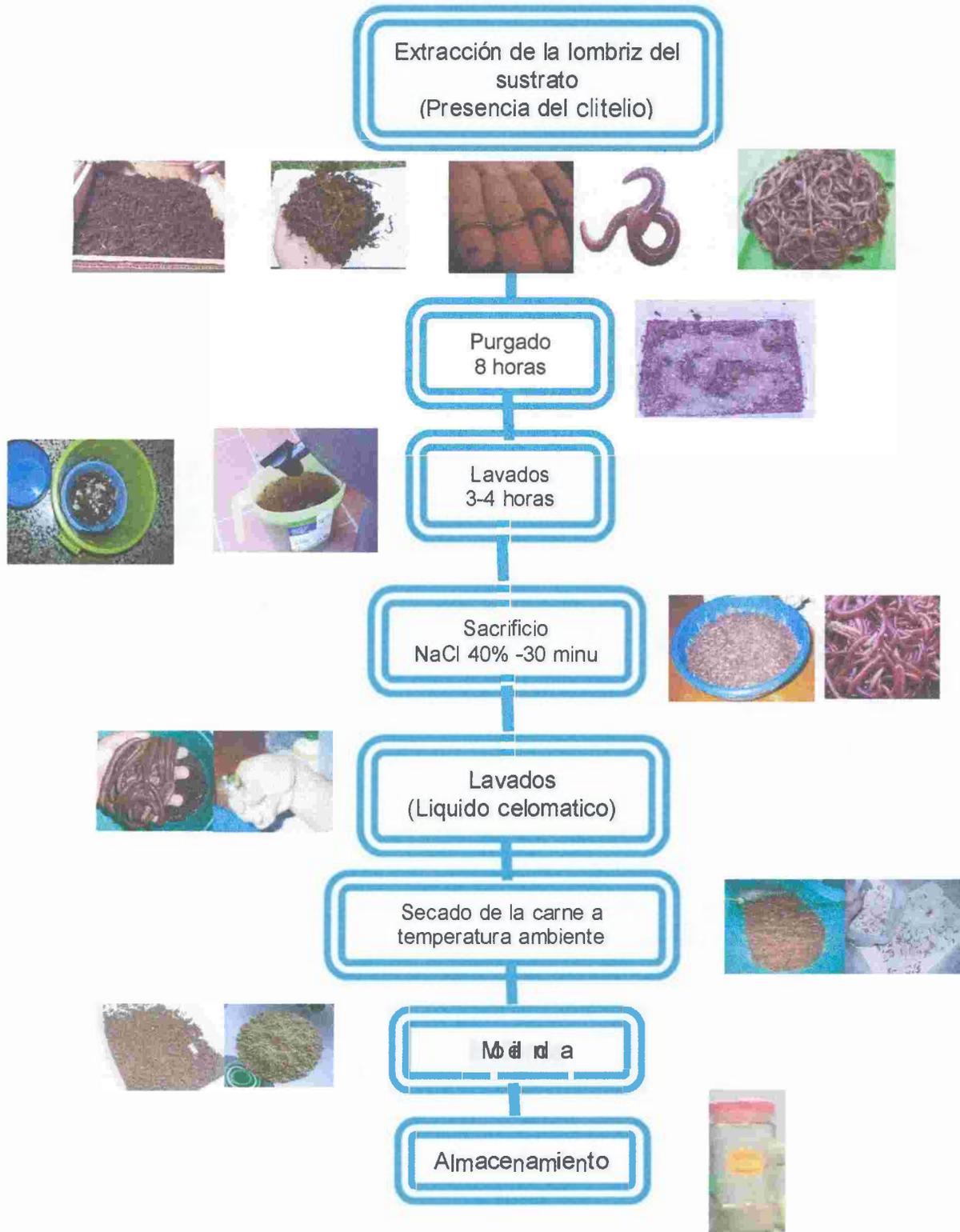
Availado: 06 de octubre de 2009


INSC. MES. YUYU. MORI TIERRA
COMUNIDAD DE URES

Cc
-Arch

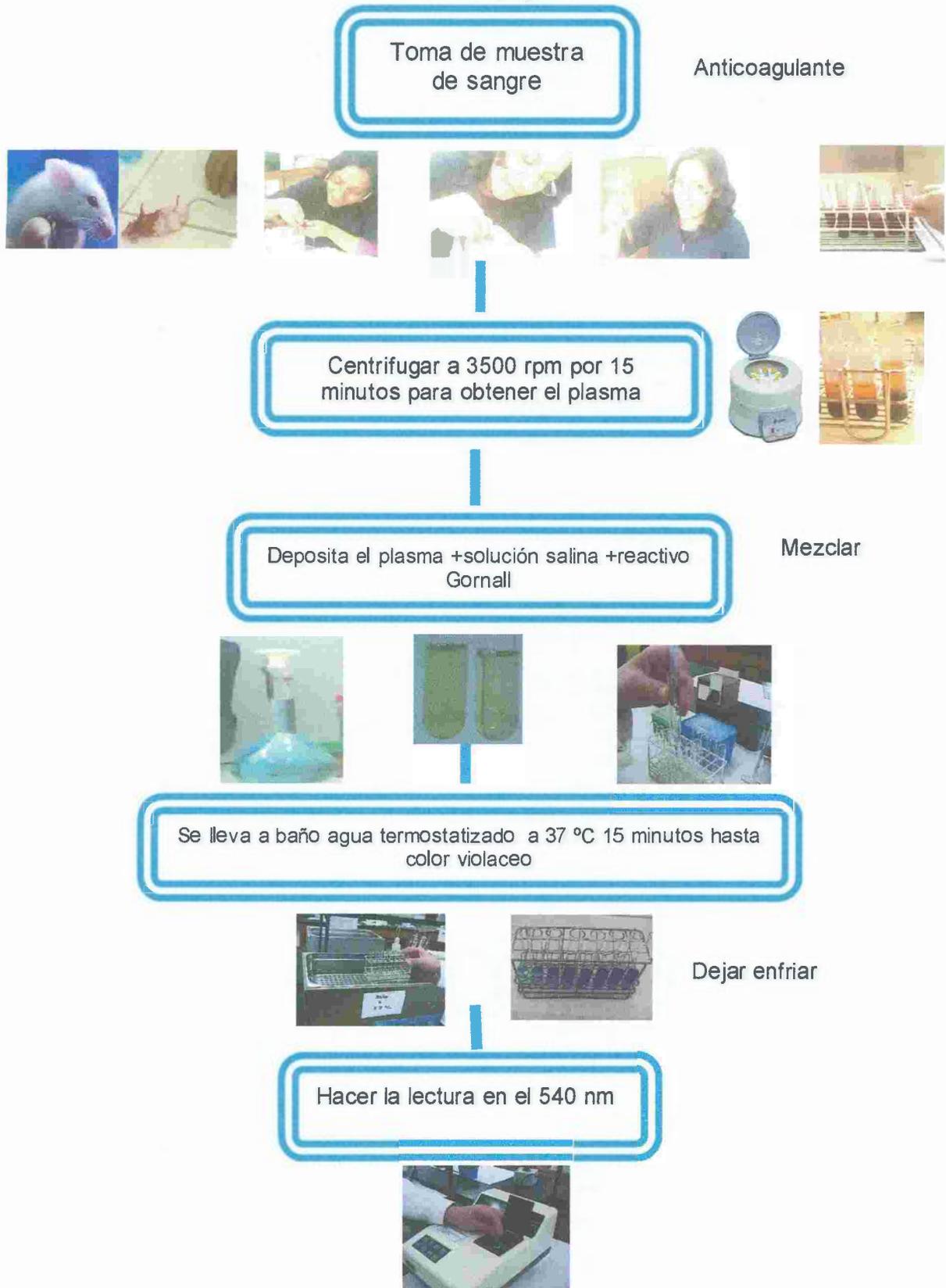
Anexo Nº 03

Flujograma para la obtención de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana"



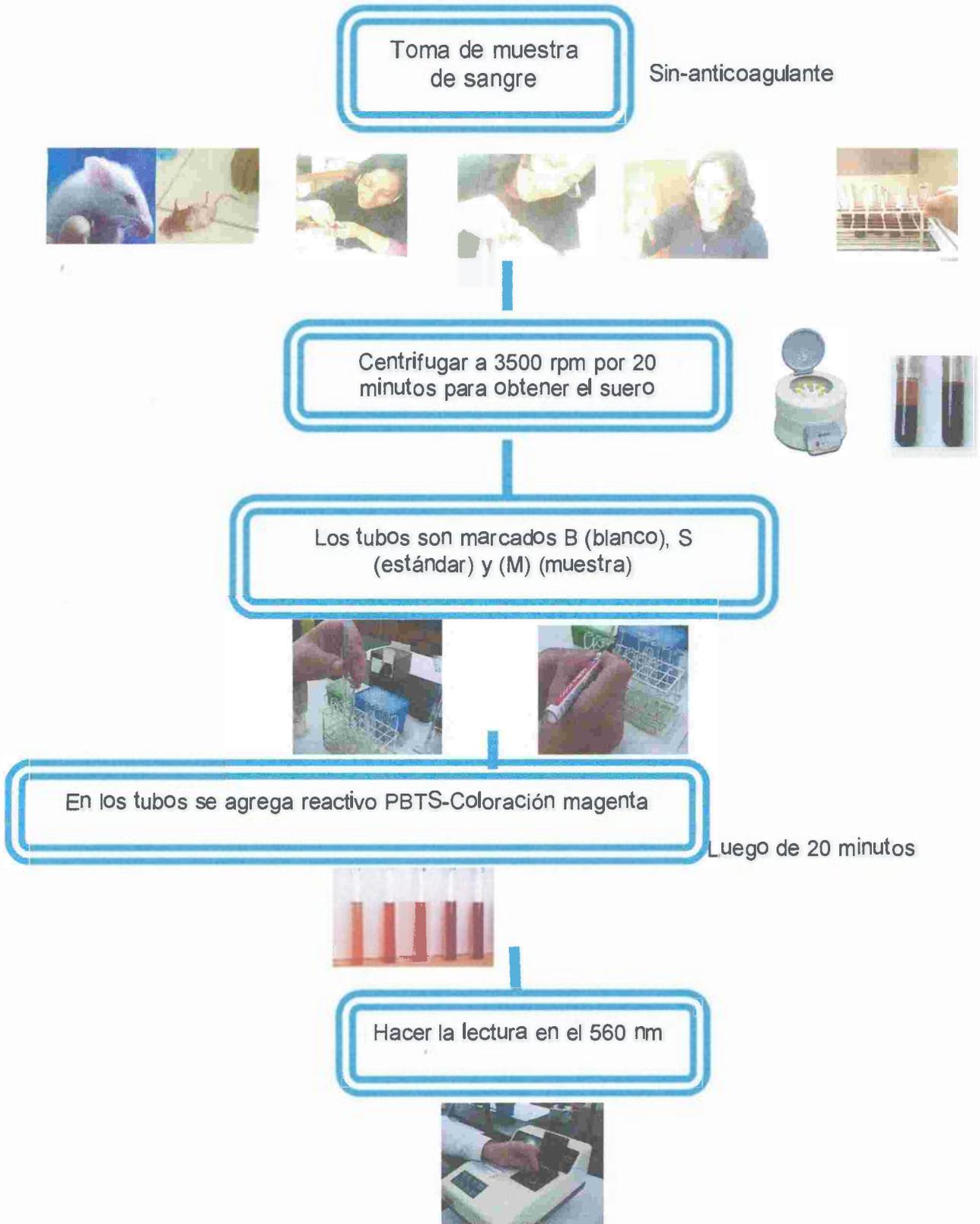
Anexo N° 04

Flujograma para la determinación de proteína plasmática (Método de Gornall)

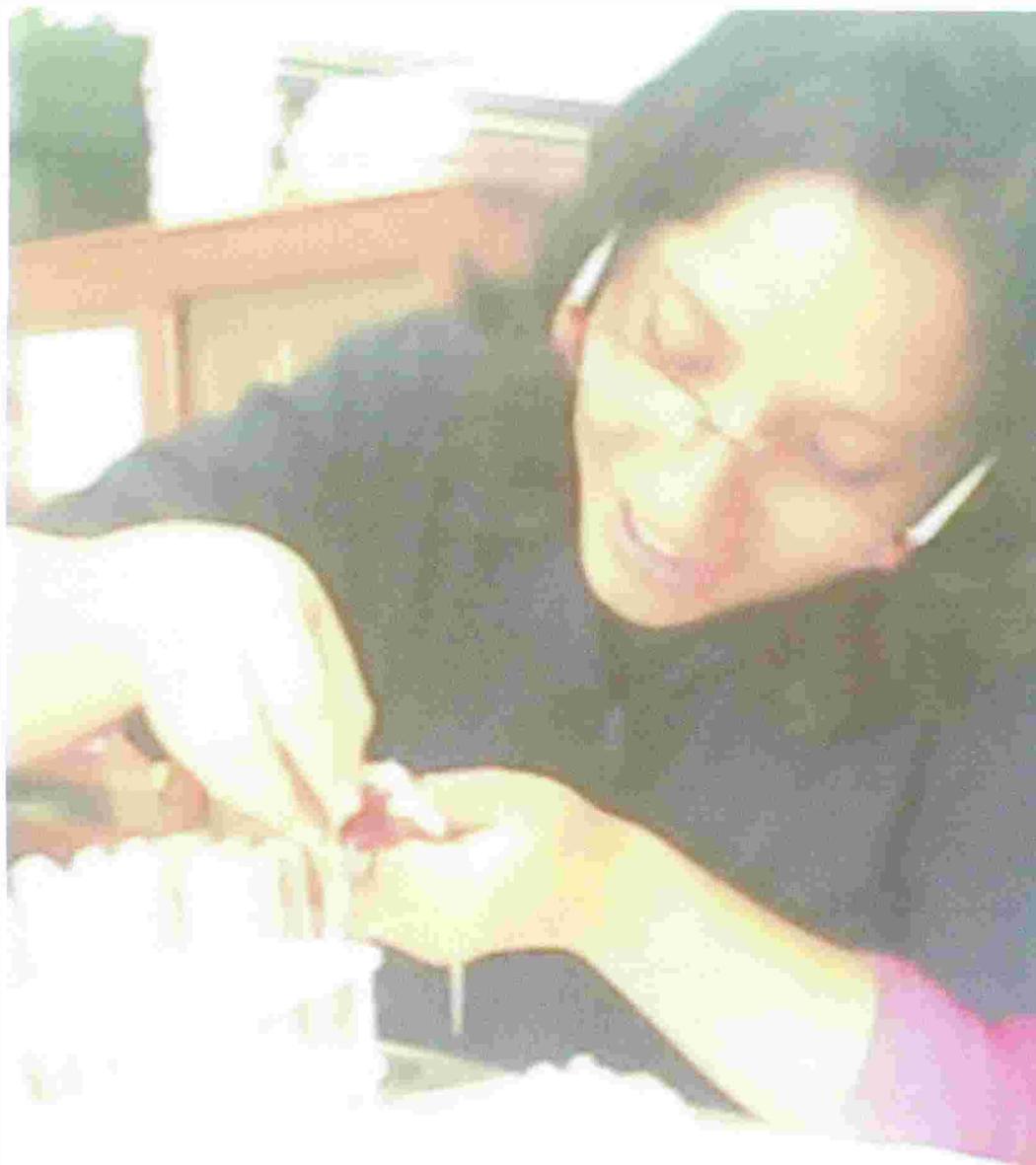


Anexo N° 05

Flujograma para la determinación de hierro sérico (Método colorimétrico para determinación de hierro sérico sin desproteización)



Anexo N° 06



Fotografía N° 1: Toma de muestra de sangre en ratón albino en el Laboratorio de la OFICRI-PNP. Ayacucho. 2010.

Anexo N° 07



Fotografía N° 2: Reactivos empleados para la determinación de hierro sérico y proteína plasmática en sangre de ratón albino.

Anexo N° 08



Fotografía N° 3: Muestras de sangre de ratón albino en reposo para la separación del suero y plasma sangre en el Laboratorio de la OFICRI-PNP. Ayacucho. 2010.

ANEXO N°09

Tabla N° 07. Análisis de varianza para la ganancia de peso y longitud de ratones albinos, alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina. Ayacucho-2010.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Ganancia De Peso (g)	Inter-grupos	133,237	4	33,309	7,589	,024
	Intra-grupos	21,946	5	4,389		
	Total	155,183	9			
Ganancia De Talla (cm)	Inter-grupos	1,050	4	,263	1,651	,295
	Intra-grupos	,795	5	,159		
	Total	1,845	9			

Tabla N° 08. Prueba de Tukey para la ganancia de peso de los ratones albinos, comparando 5 tipos de alimentación (dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina). Ayacucho-2010.

GANANCIA DE PESO (g)

HSD de Tukey

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = .05	
		2	1
I	2	3,1750	
IV	2	10,3900	10,3900
II	2	10,5150	10,5150
V	2	11,3550	11,3550
III	2		14,2200
Sig.		,055	,449

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
A Usa el tamaño muestral de la media armónica = 2,000

Tabla N° 09. Prueba de Tukey para la ganancia de longitud de ratones albinos, comparando 5 tipos de alimentación (dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina). Ayacucho-2010.

GANANCIA DE LONGITUD (cm)

HSD de Tukey

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = .05
		1
I	2	1,2000
V	2	1,6500
II	2	1,7500
IV	2	2,0500
III	2	2,1000
Sig.		,293

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

A Usa el tamaño muestral de la media armónica= 2,000.

Tabla N° 10. Análisis de varianza para la proteína sérica de ratones albinos, alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina. Ayacucho-2010.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: PROTEINA (g/100 ml)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	39,451(a)	7	5,636	34,730	,000
Intersección	1155,303	1	1155,303	7119,309	,000
TRATAMIENTO	21,761	4	5,440	33,525	,000
Error	5,193	32	,162		
Total	1199,946	40			
Total corregida	44,644	39			

a R cuadrado= ,884 (R cuadrado corregida = ,858)

Tabla N° 11. Prueba de Tukey para la proteína sérica de ratones albinos, comparando 5 tipos de alimentación (dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina). Ayacucho-2010.

PROTEINA (g/100 ml)

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
I	8	4,2038			
V	8		4,9263		
IV	8			5,5750	
II	8			5,8550	5,8550
III	8				6,3113
Significación		1,000	1,000	,638	,183

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,162.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,000

b Alfa= ,05

Tabla N° 12. Análisis de varianza para el hierro sérico de ratones albinos, alimentados con dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina. Ayacucho-2010.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: HIERRO SERICO (ug/dL)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	478,720(a)	7	68,389	53,628	,000
Intersección	126841,654	1	126841,654	99464,659	,000
TRATAMIENTO	318,348	4	79,587	62,409	,000
Error	40,808	32	1,275		
Total	127361,182	40			
Total corregida	519,528	39			

a R cuadrado= ,921 (R cuadrado corregida= ,904)

Tabla N° 13. Prueba de Tukey para hierro sérico de ratones albinos, comparando 5 tipos de alimentación (dos concentraciones de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana", yuca, caseína y ratonina). Ayacucho-2010.

HIERRO SERICO (ug/dL)

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto		
		1	2	3
I	8	50,9338		
V	8		56,3288	
IV	8		57,6313	57,6313
II	8		57,6413	57,6413
III	8			59,0250
Significación		1,000	,163	,123

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,275.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,000

b Alfa= ,05.

Tabla N° 14. Peso y longitud reportado en los tratamientos

ratones -yuca 30g		yuca 20-10g de harina de lombris		yuca 10 - 20 g de harina de lombris		yuca(10)- caseína(20g)		yuca(10)- ratonina(20g)	
peso- g	longitud cm	peso- g	longitud cm	peso- g	longitud cm	peso- g	longitud cm	peso- g	longitud cm
08/09/2010									
15,47	6,2	15,58	6,2	15,56	5,9	15,39	6	15,69	6,3
16	6,6	16,89	6,5	16,23	6,8	16,85	6,5	16,58	6,4
24/09/2010									
16,15	6,8	23,8	7	24,78	7,5	22,8	7	23,54	7
17,88	6,79	24,5	7,2	24,35	7,5	23,5	7,1	23,75	7,5
01/10/2010									
17,15	7	24,3	7,3	25,44	8	23,5	7,3	24,2	7,3
18,6	7,2	25,2	7,86	25,22	7,9	23,88	7,6	24,55	7,7
08/10/2010									
19,5	7,5	25,7	7,5	26,25	8,4	24,44	8	26,4	7,8
19,78	7,4	26,3	7,9	26,88	8,2	24,88	8,2	26,55	8
15/10/2010									
21,1	7,7	26,5	7,8	29,88	8,4	26,53	8,4	27,44	7,9
22,35	7,5	27	8,4	30,35	8,5	26,49	8,2	27,54	8,1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
<p>"Actividad férrica-proteica de harina de <i>Eisenia foetida</i> "lombritz californiana" a diferentes concentraciones en "ratones albinos". Ayacucho-2010</p>	<p>¿Tendra Actividad férrica-proteica la harina de <i>Eisenia foetida</i> "lombritz californiana" y cual será mejor probada a dos diferentes concentraciones en "ratones albinos" durante el año 2010?</p>	<p>Objetivo General ❖ Evaluar la actividad férrica-proteica de la harina de <i>Eisenia foetida</i> "lombritz californiana" en probada concentraciones sobre ratones albinos</p> <p>Objetivos Especificos ❖ Obtener la harina de <i>Eisenia foetida</i> y evaluar estudio bromatológico. ❖ Comparar los pesos y longitud de los ratones albinos en los diferentes tratamientos. ❖ Comparar los niveles de hierro y proteína sérica en los ratones albinos en los diferentes tratamientos. ❖ Determinar la concentración optima de harina de <i>Eisenia foetida</i> que tenga actividad férrica- proteica</p>	<p>Harina de <i>E.foetida</i>- se caracteriza por tener un elevado contenido de proteínas. (> 60% p/p, base seca). Proporciona aminoácidos esenciales, el contenido de lisina en la harina de lombritz es significativo (5,9% p/p). En el trabajo de investigación de la Doc. Q.F. Rosa Vielma Rondón menciona que se extraen los productos base para la Industria farmacéutica además del colágeno, a partir del líquido celomático, contenido en el celoma. Proteína.-La principal función de las proteínas es la de construcción y reparación de los tejidos</p>	<p>La harina de <i>Eisenia foetida</i> "lombritz californiana", posee actividad férrica-proteica, siendo esta mayor cuanto más sea la concentración de harina administrada y tiempo que transcurre el tratamiento con la misma.</p>	<p>Variante Independiente: Harina de <i>Eisenia foetida</i>. Indicadores ❑ Diferentes concentraciones en harina: 10 g, 20 g. ❑ Dias administrados con las distintas concentraciones. 4.1.2 Variable Dependiente: Actividad férrica-proteica de la harina de <i>Eisenia foetida</i> Indicadores ❑ Niveles de proteína en sangre. ❑ Niveles de hierro en sangre. Relación Entre Variables La actividad férrica-proteica depende de las diferentes concentraciones de la harina de <i>E.foetida</i>.</p>	<p>DISEÑO METODOLOGICO Población: Lombrices de la especie <i>Eisenia foetida</i>. Del Programa de Pastos y Ganadería de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga en el departamento de Ayacucho. Muestra: 9Kg de <i>Eisenia foetida</i> en estado adulto (3meses), con una longitud y peso promedio de 8,5 cm y 0,45 gramos respectivamente, a mediados del mes julio, las muestras se toman al azar tomando en cuenta las lombrices en buenas condiciones y estado de madurez. Unidad experimental: 50 ratones albinos PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL ❑ Obtención de la harina ❑ Evaluación de los parámetros bromatológicos de la harina DISEÑO EXPERIMENTAL: Diseño experimental con estímulo creciente (10 y 20 g) de harina de lombritz, con un blanco harina de yuca y con dos estándares caseína y ratonina, con solo post-prueba, ajustado a un diseño de bloques que está constituida por los lotes de ratones de los que se analizaron la proteína y hierro sérico en cuatro tiempos diferentes . Variables Evaluar a. Determinación de proteína b. Determinación de hierro sérico</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R.D. N° 144-2011 - FCB- D
Bach. CALDAS CAMASI, Giovana Albina.

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día miércoles dieciocho de mayo del año dos mil once reunidos en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Maestro en Ciencias Elmer Ávalos Pérez como Decano de la Facultad y la asistencia de los docentes miembros jurados: Mg. José Diez Macavilca (Asesor); Mg. Enrique Javier Aguilar Felices; Mg. Tomas Castro Carranza (Cuarto Jurado Calificador), actuando como secretaria Docente la magister Maricela López Sierralta, reunidos para la administración de la sustentación de Tesis: Actividad férrica-proteica de harina de *Eisenia foetida* "lombriz californiana" a diferentes concentraciones en "ratones albinos". Ayacucho -2010, Presentado por la bachiller en Farmacia y Bioquímica GIOVANA ALBINA CALDAS CAMASI quien con la sustentación de su trabajo de investigación pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutica.

El Decano inicia el acto de sustentación, indicando a la secretaria docente, la revisión de la documentación en mesa y la lectura de la resolución Decanal N° 144-2011- FCB-D, para luego dar algunas indicaciones a la sustentante en aspectos relacionados al proceso de la exposición, recomendando no limitarse solo a la lectura de las diapositivas si no a la exposición propia del trabajo de investigación, además indica que los docentes tienen un tiempo de treinta minutos para su intervención y la sustentante cuarenta y cinco minutos como máximo para la exposición. La sustentante inicia su exposición haciendo uso de equipo multimedia por un tiempo adecuado.

Luego el Decano inicia la segunda parte del acto de sustentación en la cual los docentes miembros del jurado calificador realizaran sus observaciones y las preguntas que crean convenientes para llevar a cabo el proceso de evaluación, iniciando su participación el Profesor Tomas Castro Carranza como cuarto jurado calificador, luego el Profesor Enrique Aguilar y finalmente el Profesor José Diez Macavilca en calidad de Asesor del trabajo de investigación.

Culminado esta etapa el Decano invita a la sustentante e invitados (público en general) abandonar el auditorio para que el jurado calificador pueda deliberar y calificar como sigue:

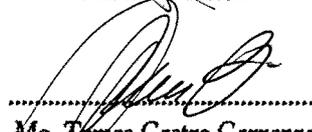
JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RPTA. A PREG.	PROMEDIO
Mg. José Diez Macavilca	17	17	17
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Mg. Tomas Castro Carranza	17	16	16.5

De la evaluación correspondiente, la sustentante obtiene la nota promedio de DIECISIETE (17), de lo cual dan fe, estampando su firma al pie de la presente. Culminando el acto de sustentación siendo las seis de la noche.


 M.S. Elmer Avalos Perez
 Presidente


 Mg. Jose Diez Macavilca.
 Miembro Asesor


 Mg. Enrique Aguilar Felices
 Miembro


 Mg. Tomas Castro Carranza
 Miembro


 Mg. Maricela Lopez Sierralta.
 Secretaria