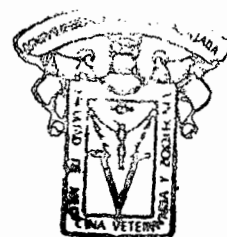


1986

REG. N°. 077572244

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE UREA, NITROGENO
UREICO Y ACIDO URICO EN SUERO DE CODORNIZ JAPONESA
(COTURNIX JAPONICA)

RENE SANTIBAÑEZ ESCOBAR

ASESOR: Q.F.B. YOLANDA PARTIDA ORTIZ

GUADALAJARA, JALISCO, 1986

DEDICO ESTA TESIS

A MIS PADRES:

ANDRES Y LUZ PORQUE GRACIAS A SU AMOR
Y SACRIFICIO HE LLEGADO A SER LO QUE
SOY

A LETY:

COMPAÑERA Y MOTIVACION DE MI VIDA

A TODOS AQUELLOS QUE DE ALGUNA FORMA
ME AYUDARON A REALIZAR ESTE TRABAJO

I N D I C E

	PAG.
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
HIPOTESIS	7
OBJETIVOS	8
MATERIAL Y METODO	9
RESULTADOS	13
DISCUSION	19
CONCLUSIONES	20
SUMARIO	21
BIBLIOGRAFIA	22

P R O L O G O .

El presente trabajo forma parte integral de una serie de estudios realizados en la codorniz japonesa (Coturnix Japónica), que en su conjunto pretenden establecer patrones sobre la composición sanguínea de dicha especie, para relacionarlo con su resistencia a enfermedades infecto-contagiosas a que son susceptibles las aves de corral comúnmente explotadas, esperando colaborar con este esfuerzo a la mayor y mejor explotación y aprovechamiento en beneficio del hombre.

Estos estudios se están realizando en el departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

I. INTRODUCCION .

La década de 1975 a 1985 ha marcado en la historia de muchos países del mundo, entre ellos México, una época de grandes crisis político-sociales, bélicas y sobre todo económicas; éstas acarrearán consigo muchos problemas entre los que podemos destacar el hambre. En México la desnutrición es un grave problema que afecta al 60% de la población, aunque algunos expertos tienden a reducir este número al 40 o 50% de los habitantes con insuficiente e inadecuada ingesta. Se prevee para los próximos 20 años, una alarmante situación que incrementará - hasta un 75% la población desnutrida por la poca disponibilidad de alimento. Este problema alcanza magnitudes drásticas fuera de nuestras fronteras, lo que ha llevado a muchos países y organizaciones mundiales a afrontar el problema en un plano prioritario dada su importancia. (9).

Teniendo en cuenta la gravedad de este problema, - se justifica cualquier intento en la búsqueda de soluciones eficaces. Es tarea del Médico Veterinario y Zootecnista emprender dicha búsqueda de nuevas fuentes alimenticias de origen animal y mejorar el aprovechamiento de las ya existentes.

Cabe señalar que la coturnicultura ha surgido como una rama de la avicultura moderna, plena de posibilidades desde el punto de vista económico y con amplias - - perspectivas de comercialización, planteamiento industrial de las explotaciones, etc.

Dentro de la coturnicultura, buscamos dos fines -- principales: La producción de huevo y la producción de carne.

Es de peculiar importancia para la producción de carne el rápido crecimiento y desarrollo de estas aves, ya que a los 45 días alcanzan su madurez sexual junto con ésta, pesos hasta de 120 g bajo exigencias nutricionales mínimas. (8)(1)

Aquí podemos destacar importantes ventajas sobre la gallina de postura, la cual inicia la producción de huevo hacia las 20 semanas, y también sobre el pollo de engorda, el cual alcanza su peso de mercado hacia las ocho semanas de edad.

Las exigencias nutricionales de la codorniz y la gallina se muestran en las tablas 1 y 2 respectivamente.

Tabla No. 1

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LA CODORNIZ (2)	
E. METABOLIZABLE	2200-3400 Kcal/Kg
PROT. BRUTA	20.0%
LISINA	1.0%
METININA/CISTINA	0.66%
CALCIO	2.50%
FOSFORO	0.80%
ZINC	75.0 mg/Kg
VIT. A	3.3 UI/Kg
VIT. D	1.2 UI/Kg
VIT. E	1.0 UI/Kg

Tabla No. 2

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LA GALLINA PONEDORA (5).

E. METABOLIZABLE	2200 Kcal/Kg
PROT. DIGESTIBLE	19 g/día
LISINA	1 g/día
METIONINA/CISTINA	0.83 g/día
CALCIO	2.5 - 2.9 g/día
FOSFORO	0.7 g/día
VIT. A	660 UI/Kg
VIT. D	70 UI/Kg
VIT. E	3 UI/Kg

Se estima que la codorniz tiene una producción promedio hasta de 300 huevos al año, pudiendo llegar a tener un peso superior a los 11 g cada uno. La hembra, rompe postura desde los 40-90 días y llega a su plenitud a los 100. De aquí desprendemos las perspectivas tan favorables para la producción en masa de huevo para consumo, siendo éstos entre otros atributos, un alimento de alto valor nutritivo.

En la tabla No. 3 se cita de una forma comparativa, la composición promedio del huevo de gallina y codorniz.

Tabla No. 3

COMPOSICION PROMEDIO DEL HUEVO DE GALLINA Y CODORNIZ (2)

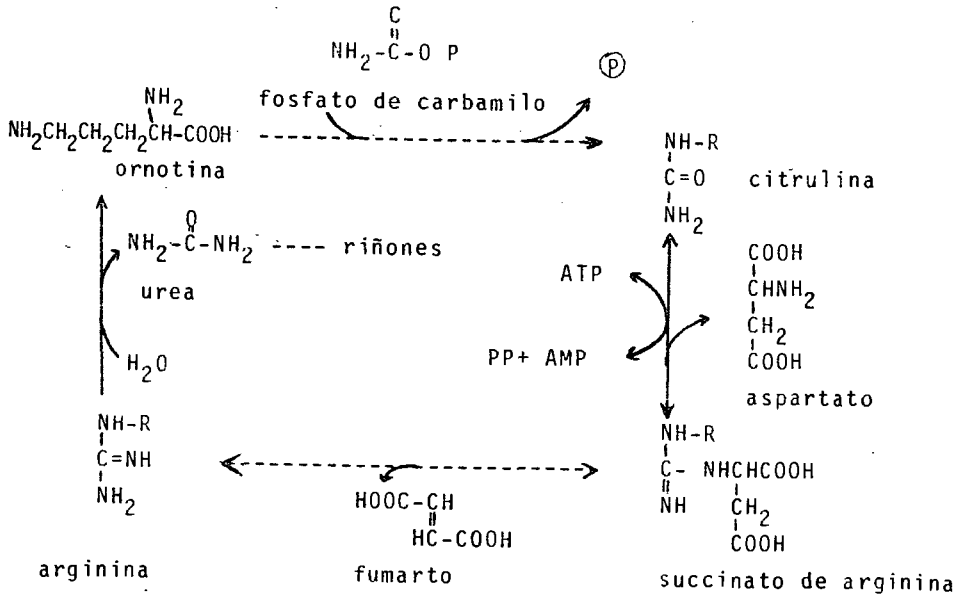
PROTEINAS	11.30%	15.60%
AGUA	74 %	73.9 %
GRASAS	11.0 %	11.0 %
MINERALES	1.0 %	1.2 %

Para un buen rendimiento, todas las especies domésticas precisan por encima de sus necesidades de mantenimiento, cantidades bien definidas de principios nutritivos, como vitaminas, sales minerales, grasas, entre otros, pero muy importantes son las proteínas que contienen nitrógeno.

El nitrógeno de los principios nutritivos absorbidos se eliminan por la orina en forma preferentemente de urea y ácido úrico. (5)

La formación de urea, tiene lugar en el hígado y es catalizada por un mecanismo cíclico denominado Ciclo de la Urea. A este ciclo se incorporan dos grupos amino, originalmente derivados de los alfa aminoácidos y una molécula de CO_2 mediante un proceso que necesita consumo de ATP y tiene como resultado una molécula de urea. (6)

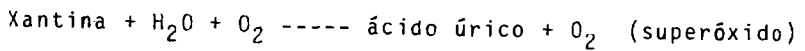
El ciclo se inicia con la condensación del fosfato de carbamilo (formado a partir de amoníaco y CO_2 mediante la enzima sintetasa fosfato de carbamilo) y ornitina para formar citrulina con ayuda de la enzima transcarbamilasa. La citrulina se condensa con aspartato para producir argininosuccinato pro acción de la enzima sintetasa argininosuccinato. Y luego, bajo la influencia de la enzima argininosuccinasa, se adhiere argininosuccinato para formar arginina y fumarato. Finalmente, en presencia de la enzima arginasa, la urea se fracciona de la arginina a medida que se regenera ornitina, una de las sustancias iniciales de este ciclo. La urea, que es el principal producto de desecho nitrogenado del catabolismo de las proteínas, llega a los riñones - por la sangre para ser excretado. (12)



CICLO DE FORMACION DE LA UREA

En los animales superiores, los nucleótidos resultantes de la degradación de los ácidos nucleicos, experimentan generalmente su hidrólisis enzimática, hasta rendir finalmente las bases púricas y pirimídicas libres, si no son recuperadas y reutilizadas son degradadas y sus productos finales excretados. En algunos vertebrados incluyendo las aves el producto final de la degradación de dichas bases es el ácido úrico.

Las purinas principales, adenina y guanina, se convierten primero en Xantina, la cual es entonces oxidada a ácido úrico por la compleja flavo proteína xantinoxidasa:



El ácido úrico se encuentra en la sangre principalmente en forma de urato monosódico; tanto el ácido libre como sus sales. Los uratos son relativamente insolubles en agua, lo cual provoca que en algunos individuos el ácido úrico precipite y cristalice en la orina formando cálculos renales y lesionando el riñón. (6).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los productos finales más importantes del metabolismo protéico son, la urea y el ácido úrico. Si establecemos valores promedio normales de estos compuestos nitrogenados, tendremos un parámetro que nos servirá como auxiliar en el estudio y comprensión de algunas alteraciones metabólicas de importancia.

3. HIPOTESIS

La concentración de urea, nitrógeno ureico y ácido úrico, no son iguales en las gallinas y en las codornices adultas.

4. OBJETIVOS

- 4.1 General: Determinar la concentración de productos metabólicos protéicos en suero de codorníz adulta.
- 4.2 Particular: Determinar valores de referencia de urea, nitrógeno ureico y ácido - úrico en suero de codorníz adulta.

5. MATERIAL Y METODO.

5.1 MATERIAL

5.1.1 BIOLÓGICO.- 100 Codornices hembras adultas. Estas aves proceden de un lote de 500 codornices, las cuales están explotadas bajo condiciones que consideramos buenas. Se alojan en batería de cinco pisos y cada piso tiene compartimientos en donde se alojan un promedio entre ocho y diez aves. Son alimentadas con alimento comercial para gallina de postura complementado con carbonato de calcio en proporción de 50 g/Kg de alimento, agua corriente a libre acceso.

5.1.2 MATERIAL DE VIDRIO,- De uso frecuente en el laboratorio.

5.1.3 EQUIPO.

5.1.3.1 Espectrofotómetro

5.1.3.2 Centrífuga

5.1.3.3 Baño María

5.1.4 REACTIVOS (*)

5.1.4.1	<u>Amortiguador/ureasa</u>	- 50mmol/l pH 6.5
	<u>Amortiguador de fosfatos</u>	
	ureasa	- 10 U/ml
5.1.4.2	<u>Estándar</u>	
	urea	- 3 mg/100 ml
5.1.4.3	<u>Fenol</u>	
	fenol	- 0.106 mol/l
	nitroprusiato-Na	- 0.17 mmol/l
5.1.4.4	<u>Hipoclorito</u>	
	hipocloritosódico	- 11 mmol/l
	lejía de sosa	- 0.125N
5.1.4.5	<u>Amortiguador</u>	
	amortiguador de fosfato	- 0.6 mol/l; pH 7.0
	amoníaco metanol	- 1.7 mol/l
	catalasa	- =700U/ml
5.1.4.6	<u>Acetilcolina/metanol</u>	
	acetilacetona	- 0.42 mol/l
	metanol	- 2.5 mol/l

(*) Según fórmula de BOEHRINGER, MANNHEIM, Gmb H
MANNHEIM, Alemania Occidental.

- 5.1.4.7 Estándar
ácido úrico - 6 mg/100 ml
- 5.1.4.8 Uricasa - 5 U/ml glicerol
al 50%.
- 5.1.4.9 Reactivo de ácido úrico.
Para preparar este reactivo se mezclan el
amortiguador y la acetilcolina/metanol en
proporción de 4 a 1.

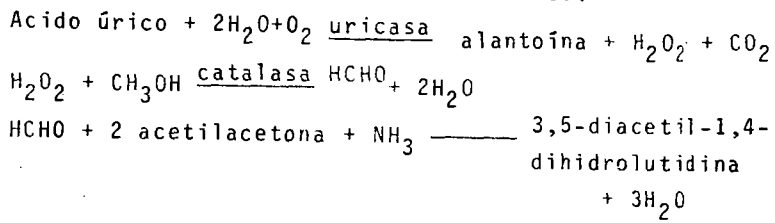
5.2 METODO

5.2.1 Técnica de Sangrado

- 1o. Un ayudante sujeta el ave sobre una mesa en -
posición de decúbito dorsal y con las alas ex
tendidas.
- 2o. Localizar el hueco formado en los espacios in
tercostales y eliminar las plumas lo mejor po
sible.
- 3o. Desinfectar el área con una torunda impregna-
da de alcohol.
- 4o. Introducir la aguja hasta 3/4 partes de su --
longitud total y en forma perpendicular a la
línea que sigue el esternón.
- 5o. Hacer tracción del émbolo hasta que haya un -
fluído constante de sangre. En caso de que no
fluya sangre corrija la posición de la aguja.
- 6o. Tomar la cantidad deseada de sangre mediante
una tracción moderada para evitar que al sa--
llir la sangre con demasiada presión negativa
se produzca lisis de eritrocitos.
- 7o. Sacar la aguja mediante un movimiento firme y
rápido. Separar la aguja de la jeringa y depo-
sitar la sangre en tubo de centrifuga diri- -
giendo el flujo hacia la pared del tubo.
- 8o. Hacer fluír agua fría por la jeringa y aguja
para evitar la coagulación de sangre residual.

- 9o. Dejar que se coagule la sangre en los tubos, separar el coágulo de las paredes del tubo - mediante un palillo de madera.
- 10o. Separar el suero por centrifugación y colocarlo en tubos de ensayo.

5.2.2 Fundamento de la técnica de ácido úrico.



5.2.3 Técnica de ácido úrico.

Pipetear en el fondo de los tubos de ensayo:

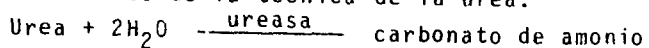
	Patrón	Muestra
Material de prueba	0.50 ml	-
Reactivo de ácido úrico	5.00 ml	-
Se mezcla bien el contenido del tubo de ensayo		
Uricasa	-	0.02 ml
Pipetear del tubo de ensayo del patrón	-	2.50 ml

Se mezcla bien y llevar a baño María por lo menos 60 minutos a 37°C, medir la extinción de la muestra frente al patrón.

Cálculo:

$$C - E.muestra \times 24.6\text{mg}/100 \text{ ml}$$

5.2.4 Fundamento de la técnica de la urea.



Los iones de amonio reaccionan con el fenol e hipoclorito formando un complejo coloreado.

5.2.5 Técnica de urea.

Se pipetea sobre el fondo de los tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Amortiguador/ureasa	0.1 ml	0.10ml	0.10ml
Urea	-	0.20ml	-
Suero	-	-	0.02ml

Se mezclan y se cierran los tubos de ensayo con tapones limpios y se llevan a baño maría de 37°C durante 10 minutos.

Fenol	5.0 ml	5.0 ml	5.00ml
Hipoclorito	5.0 ml	5.0 ml	5.00ml

Se mezclan después de agregar el hipoclorito y se llevan a baño maría de 37°C durante 15 minutos, -- después se miden las extinciones de la muestra y - del patrón frente al blanco.

Cálculo:

$$C = \frac{E. \text{ prueba}}{E. \text{ patrón}} \times 30 \text{ mg/100 ml}$$

Los valores para la concentración del nitrógeno -- ureico se calculan con las lecturas de extinción - de la urea como sigue:

$$C \text{ N-ureico} = \frac{E. \text{ prueba (muestra)}}{E. \text{ estándar (patrón)}} \times 14 \text{ mg/100 ml}$$

6. RESULTADOS

No. DE MUESTRA	UREA mg/100 ml	N.UREICO mg/100ml	ACIDO URICO mg/100 ml
1	22.22	10.37	2.23
2	13.75	6.41	2.58
3	9.20	4.29	4.99
4	4.80	2.24	6.59
5	6.32	2.95	12.81
6	7.07	3.29	5.73
7	11.58	5.40	11.83
8	3.72	1.73	11.16
9	6.00	2.80	8.68
10	11.58	5.40	11.19
11	8.68	4.05	5.78
12	9.31	4.34	8.43
13	6.88	3.21	5.83
14	9.26	4.32	11.31
15	9.35	4.36	9.47
16	7.88	3.68	3.46
17	5.87	2.74	8.06
18	6.60	3.08	10.97
19	7.50	3.50	5.41
20	8.53	3.98	6.74
21	6.98	3.25	7.67
22	4.13	1.93	4.20
23	5.68	2.65	5.04
24	6.16	2.87	7.57

No. DE MUESTRA	UREA mg/100 ml	N- UREICO mg/100 ml	ACIDO URICO mg/100ml
25	11.67	5.49	4.32
26	8.65	3.92	3.00
27	6.16	7.87	4.35
28	12.05	5.32	3.09
29	17.01	7.71	7.28
30	7.50	3.40	7.60
31	9.81	4.57	5.65
32	5.60	2.61	7.30
33	5.32	2.48	3.46
34	5.00	2.33	4.57
35	4.16	1.94	8.27
36	3.33	1.55	6.34
37	3.75	1.75	3.39
38	2.08	0.97	3.66
39	6.66	3.11	6.91
40	2.50	1.16	5.31
41	9.58	4.47	6.47
42	11.40	5.32	7.77
43	4.20	1.96	6.86
44	1.50	0.70	5.60
45	26.40	12.32	7.42
46	5.70	2.66	5.26
47	5.70	2.66	1.18
48	2.10	0.98	4.35
49	2.40	1.12	9.34

No. DE MUESTRA	UREA mg/100 ml	N- UREICO mg/100 ml	ACIDO URICO mg/100ml
50	5.94	2.77	9.91
51	2.70	1.26	8.70
52	5.13	2.39	8.31
53	9.45	4.41	5.21
54	6.21	2.90	6.24
55	4.32	2.01	2.33
56	0.81	0.37	8.73
57	9.18	4.28	9.42
58	3.78	1.96	8.04
59	2.43	1.13	7.72
60	1.08	0.50	8.56
61	0.81	0.37	7.72
62	2.43	1.13	8.16
63	3.24	1.51	8.51
64	5.13	2.39	6.05
65	1.89	0.88	6.34
66	2.16	1.00	6.51
67	3.61	1.68	5.65
68	2.89	1.34	6.02
69	1.08	0.50	4.77
70	0.72	0.33	6.96
71	2.53	1.18	5.31
72	3.61	1.63	12.81
73	6.30	2.94	5.60

No. DE MUESTRA	UREA mg/100 ml	N- UREICO mg/100 ml	ACIDO URICO mg/100ml
74	1.83	0.85	5.90
75	6.60	3.08	8.16
76	2.75	1.28	4.50
77	6.00	2.80	5.55
78	0.91	0.42	4.74
79	6.00	2.80	4.69
80	3.90	1.82	5.11
81	3.00	1.40	4.57
82	4.20	1.96	7.38
83	3.26	1.52	4.44
84	13.42	6.26	6.58
85	7.60	3.54	6.77
86	4.89	2.28	7.19
87	6.71	3.13	7.78
88	4.89	2.28	6.72
89	6.45	3.01	7.10
90	5.67	2.64	4.74
91	7.04	3.28	7.00
92	4.93	2.30	6.11
93	8.01	3.72	3.333
94	4.90	2.28	3.81
95	5.72	2.67	5.00
96	5.71	2.66	5.37
97	3.87	1.81	4.74

No. DE MUESTRA	UREA mg/100 ml	N- UREICO mg/100 ml	ACIDO URICO mg/100ml
98	7.47	3.43	4.62
99	6.60	3.08	6.05
100	5.92	2.77	5.70

Una vez obtenidas las concentraciones y siendo sometidas a procesos estadísticos, tenemos los siguientes datos:

	RANGO	MEDIA	MEDIANA	MODA	s^2	S
UREA	25.18	6.0625	5.41779	5.754999	16.2794	4.0347
NITROGENO UREICO	11.99	2.9179	2.7004	4.233	3.288	1.8135
ACIDO URICO	11.63	6.44774	6.214	4.9124	5.022	2.2415

FINALMENTE:

CONCENTRACION PROMEDIO NORMAL EN mg/100 ml DE:

UREA	4.8520	a	7.2729
NITROGENO UREICO	2.3738	a	3.4619
ACIDO URICO	5.7752	a	7.1201

7. DISCUSION

Habiendo obtenido finalmente las concentraciones promedio normales de los compuestos que se mencionan a continuación, hemos alcanzado los objetivos tanto generales como particulares anteriormente propuestos.

1) Urea:	4.8520 a 7.2729 mg/100 ml
2) Acido Úrico:	5.7752 a 7.1201 mg/100 ml
3) Nitrógeno Ureico:	2.3738 a 3.4619 mg/100 ml

Hemos hecho, también, la comparación de estos valores obtenidos, con los valores normales ya conocidos en gallinas adultas (Gráfica No. 4); de aquí tenemos que, los valores tanto de Urea, N-ureico como de ácido úrico, son menores en la gallina que en la codorníz.

Podríamos suponer, que esta diferencia en la concentración de dichos compuestos, sea debido a que la gallina metaboliza las proteínas más lentamente, o que cuenta con mayor rapidez en el mecanismo de eliminación de estos productos. Estas diferencias, a su vez, debidas a factores genéticos (cruzas selectivas), factores de manejo zootécnico, factores ambientales, regímenes alimenticios, explotación intensiva, etc., propios del largo tiempo de domesticación de las gallinas, en contraste con la rusticidad en todos los aspectos de la codorníz japonesa (coturnix japónica).

8. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, concluimos que:

- 1) Concentración de urea plasmática:
4.8520 a 7.2729 mg/100 ml.
- 2) Concentración de N-ureico plasmático:
2.3738 a 3.4619 mg/100 ml.
- 3) Concentración de ácido úrico plasmático:
5.7752 a 7.1201 mg/100 ml.
- 4) Se acepta la hipótesis:
Los valores normales de urea, ácido úrico y nitrógeno ureico, no son iguales en la codorníz y en la gallina adulta.

9. SUMARIO

Se establecieron valores promedio normales de referencia, en la sangre de la codorniz japonesa, de urea, nitrógeno y ácido úrico.

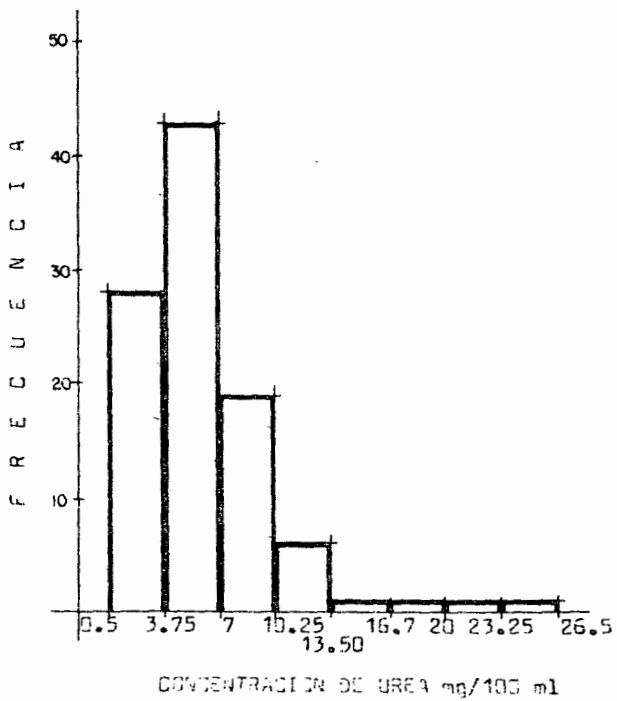
Para este fin se tomaron 100 muestras, y las determinaciones se hicieron mediante el método de espectrofotometría. Los resultados obtenidos se sometieron a procesos estadísticos que arrojaron los siguientes resultados:

UREA:	4.8520 a 7.2729 mg/100 ml.
N-UREICO:	2.3738 a 3.4619 mg/100 ml.
ACIDO URICO:	5.7752 a 7.1201 mg/100 ml.

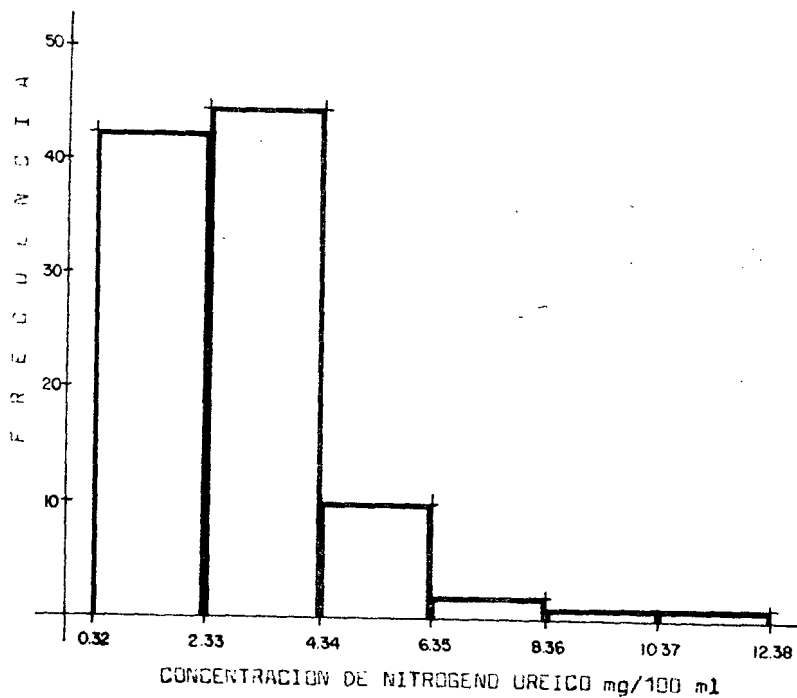
Una vez obtenidos estos resultados, se compararon con los valores normales de los mismos compuestos en la gallina adulta, como valor de referencia.

Finalmente, se pudo establecer que los niveles de los compuestos en cuestión, son normalmente más altos en la codorniz japonesa que en la gallina adulta.

GRAFICA No 1

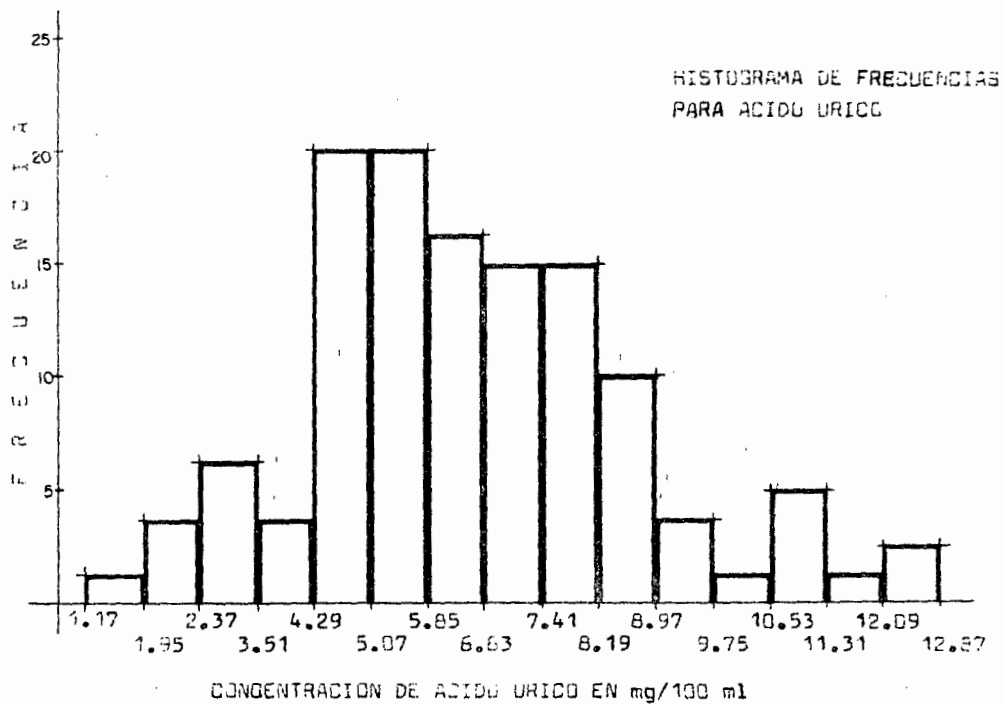


GRAFICA No 2



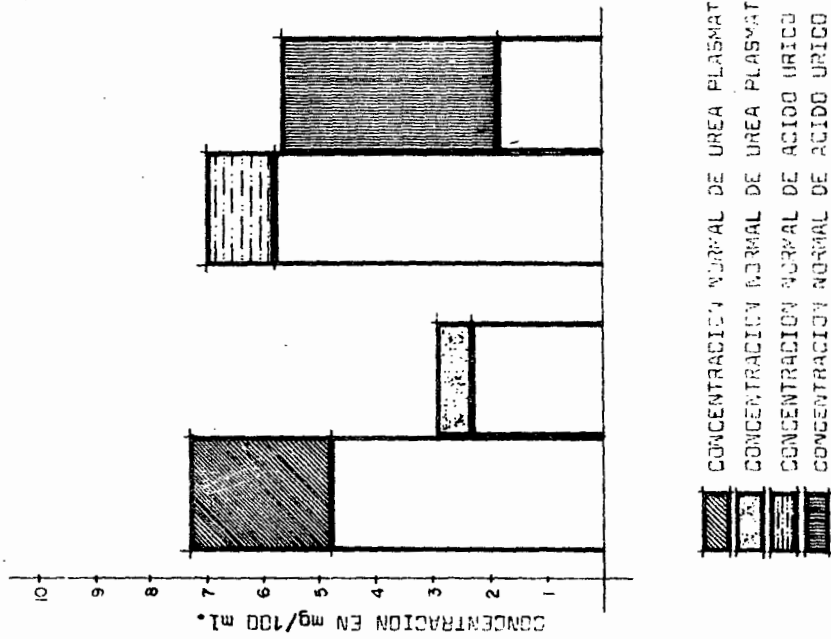
HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS EN NITROGENO UREICO

GRAFICA No 3



GRAFICA No 4

COMPARACION DE LOS NIVELES
PROMEDIO NORMAL DE LA CO-
DORNAZ Y SALLINA.



BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALI M.F.; KHISHINS, KOTBY E.A., MADY M.E.
PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF JAPANESE QUAIL
UNDER LOCAL ENVIRONMENTAL CONDITIONS 2. SEXUAL MATURITY
AND EGG PRODUCTION., DEP. ANIM. PROD., FACULTY AGRICULTURE.
AIN SHAMS UNIV., SHOUBRA EL-KHEIMA, CAIRO, EGYPT.
- 2.- BISSONI EDUARDO;
CRIA DE LA CODORNIZ
EDITORIAL ALBATROS. 1a. EDICION.
BUENOS AIRES, 1975. PAG. 25 a 28.
- 3.- HOFFMAN G.
ANATOMIA Y FISILOGIA DE LAS AVES DOMESTICAS.
EDITORIAL ACRIBIA. 1a. EDICION.
ZARAGOZA, ESPAÑA 1969. PAG. 47 A 49.
- 4.- KARLSON P.
MANUAL DE BIOQUIMICA.
EDITORIAL MARIN, S.A. 3a. EDICION
BARCELONA, 1969. PAG. 157 a 159.
- 5.- KOLB ERICH.
FISIOLOGIA VETERINARIA.
EDITORIAL ACRIBIA. 2a. EDICION
ZARAGOZA, ESPAÑA, 1976. PAG.
- 6.- LEHNINGER
BIOQUIMICA
EDICIONES OMEGA, S.A. 2a. EDICION
CASANOVA-220 BARCELONA-36, 1982. PAG. 591 a 752.
- 7.- LUCOTTE G.
LA CODORNIZ, CRIA Y EXPLOTACION.
EDICIONES MUNDIPRENS. 1a. EDICION
MADRID, 1976. PAG. 13 a 105.
- 8.- PEREZ Y PEREZ
COTURNICULTURA
EDITORIAL CIENTIFICO-MEDICA. 2a. EDICION
ESPAÑA, 1974. PAG. 1 a 40
- 9.- QUINTERO, RODOLFO
LA ALIMENTACION EN MEXICO: UN PROBLEMA POR RESOLVER;
INFORMACION CIENTIFICA Y TECNOLOGICA, VOL. 6, No. 95,
PAG. 46 (1984).

- 10.- STURKIE, P.D.
FISIOLOGIA AVIAR
EDITORIAL ACRIBIA. 2a. EDICION
ZARAGOZA, ESPAÑA, 1968. PAG. 38 a 42
- 11.- THORPE BRAY, JAMES
BIOQUIMICA
CIA. EDITORIAL CONTINENTAL, S.A. DE C.V., 1a. EDICION
MEXICO, 1982. PAG. 334 a 337
- 12.- TOPOREK
BIOQUIMICA
EDITORIAL INTERAMERICANA. 3a. EDICION
MEXICO. PAG. 365 a 366.