

300627

17

Sej



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
Incorporada a la U.N.A.M.

Elaboración de un Alimento para Ratas de Laboratorio y la Comparación de su Calidad Nutricional con un Producto Comercial

TESIS PROFESIONAL
Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
p r e s e n t a :
HECTOR LEDESMA CENTENO



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

INTRODUCCION	1
OBJETIVO	2
GENERALIDADES	3
Crecimiento	5
Reproducción	6
Requerimiento Energético	6
Proteínas	9
Aminoácidos	10
Fibra	14
Carbohidratos	14
Grasa	15
Minerales	17
Vitaminas	25
Agua	34
Alimento para animales	34
Formulación de dietas	36
Forma de las dietas	36
PARTE EXPERIMENTAL	38
Material y Métodos	38
Métodos químicos	38
Métodos biológicos	45
RESULTADOS Y DISCUSION	49
CONCLUSIONES	70
BIBLIOGRAFIA	71

INTRODUCCION.

Se han realizado un gran número de estudios en diferentes partes del mundo en relación a la formulación de alimentos procesados para animales de laboratorio basados principalmente en mezclas de cereales, vegetales, leche en polvo, harina de pescado y otras fuentes. Estos estudios han mostrado la necesidad de utilizar materias primas de bajo costo y disponibles en cada país donde se realice dicha investigación y obtener así dietas que puedan dar excelentes resultados en cuanto a la nutrición de los animales en experimentación.

La elaboración de dietas balanceadas para el mantenimiento de los animales de laboratorio comprende muchos factores que influyen de manera directa en el buen desarrollo y crecimiento de estos. La buena digestibilidad y absorción de cada uno de los nutrimentos que comprenden la dieta y la buena calidad que deben tener las materias primas, son factores que determinan el éxito del experimento.

Se debe tener en cuenta que se han desarrollado infinidad de estudios con estos animales, esperando obtener siempre resultados iguales; sin embargo, en algunos casos, el estado físico en que se encuentran los animales al inicio del experimento es variable y por tanto influye en la respuesta que puedan dar durante el estudio.

Actualmente en nuestro país se han tenido serios problemas con la importación de ciertos productos, entre los que se encuentran los alimentos balanceados para animales de laboratorio; tratando de cubrir con esta necesidad, algunas casas comerciales han elaborado alimento para estos animales; sin embargo, a la fecha con ninguno se han logrado tener resultados satisfactorios.

La finalidad de este trabajo es elaborar dietas balanceadas con diferentes formulaciones que cumplan con los requisitos calóricos y nutricionales para los animales de laboratorio; utilizando materias primas del país de alta disponibilidad y bajo costo; de estas, seleccionar aquella o aquellas dietas que puedan mantener a las colonias de estos animales en condiciones fisiológicas óptimas y con ello la satisfactoria realización de proyectos de investigación.

OBJETIVO.

Elaborar un alimento para animales de laboratorio (ratas), a partir de materias primas de fácil acceso y cuyo balance sea capaz de cubrir sus requerimientos nutricionales para que tengan un crecimiento, desarrollo y reproducción satisfactoria.

GENERALIDADES.

Las ratas y los ratones de laboratorio son los animales más utilizados en proyectos de investigación nutricional.

La rata ha probado ser el animal ideal para estudiar el metabolismo, si éste, es tá influenciado por la velocidad de ingestión de la dieta bajo condiciones específicas. En la práctica, se elaboran dietas con determinadas especificaciones, dependiendo del objetivo que se desee alcanzar.

Carlson en 1943 (12) definió como dieta óptima a la cantidad y tipo de alimento que permita y estimule un crecimiento, un desarrollo de todas las funciones biológicas, una resistencia a enfermedades, una conservación de los factores de seguridad y poderes de reestablecimiento y una longevidad adecuados; conservando sus potencias hereditarias individuales para cada especie. Se tiene la evidencia experimental de que no se puede llegar a cumplir con estas rígidas especificaciones; debido a -- que existen diferentes cepas de ratas y por tanto, no todas pueden dar respuestas idénticas pues presentan algunas diferencias entre ellas y también por la individualidad de cada animal.

Es importante establecer los requerimientos nutricionales para definir el nivel deseable de funcionamiento y desarrollo del animal, ya que si se tiene una información inadecuada, los resultados que se obtengan no serán confiables. Berg y colaboradores en 1961 (6) demostraron que un consumo excesivo de nutrimentos, da como resultado un crecimiento rápido; pero también una reducción del tiempo de vida media y del buen estado de salud.

Las ratas toman su ración diaria de alimento en pequeñas cantidades durante un período de 24 horas (23). El mínimo requerimiento nutricional y el aprovechamiento máximo de los nutrimentos del alimento, puede afectarse por factores ambientales, - por la formulación de la dieta y/o por las características propias del animal. Algunos de estos factores son:

1.- Síntesis de nutrimentos en el intestino. Se demostró que la microflora endógena del tracto gastrointestinal de la rata puede modificar la cantidad de nutrimentos requeridos en la dieta.

2.- "Strees". Las variaciones extremas de temperatura o aquellas inducidas por la alimentación de drogas y hormonas, así como el nerviosismo producido por cualquier agente pueden causar profundos efectos en los requerimientos nutricionales. - Generalmente se produce anorexia, por lo que se emplean dietas con mejor palatabilidad o con concentraciones de nutrimentos más elevados. En algunos países hay disposiciones gubernamentales para balancear o evitar el pánico y el "strees" de los ani

males durante la investigación. Los investigadores deben estar preparados para reconocer cuando un animal tiene pánico y para determinar la magnitud de dicho estado. Esto se hace en base a 5 variables independientes que se prueban para establecer la desviación del comportamiento normal. Estas variables son: peso corporal, apariencia, signos clínicos, comportamiento inesperado y respuesta al estímulo apropiado. Se evalúa cada variable y se clasifica de acuerdo a los siguientes grupos a cada animal:

- | | |
|----------------|---------------------------|
| 1.- normal | 3.- moderadamente anormal |
| 2.- sub-normal | 4.- excesivamente anormal |

En base a estos factores se determina la severidad del pánico.

3.- Dietas nutricionalmente no balanceadas. La velocidad de crecimiento de la rata se modifica alterando el contenido de carbohidratos, de grasa y la cantidad y calidad de proteínas.

4.- Etapas de ciclo de vida. Los requerimientos nutricionales de los animales, - cambian en las diferentes etapas de sus ciclos de vida. Esto lo explica una recopilación de datos, en donde dietas que producen un máximo crecimiento posterior al - destete, no necesariamente permiten una máxima reproducción en las mismas cepas, y los animales criados con dietas que promueven un máximo crecimiento o reproducción, no presentaron respuestas óptimas en estudios de longevidad (35).

5.- Interacción de nutrimentos. Una concentración anormal de un nutrimento determinado puede alterar la concentración requerida de otros. Los incrementos de la concentración de grasa (energía), causan decremento en la cantidad de alimento que se consume, ya que la ingesta en los mamíferos depende de la satisfacción de los requerimientos energéticos. Cuando el experimento requiere de un incremento en la concentración de grasa, es recomendable también incrementar la concentración de otros nutrimentos para compensar la baja de la ingesta. Las dietas con una concentración - elevada de un mineral pueden ocasionar deficiencias en otros minerales que están en concentraciones aparentemente requeridas dentro de la dieta (35).

6.- Adición de sustancias prueba. El hecho de administrar sustancias de prueba a la dieta para una elevada toxicología, influye directamente en los requerimientos - nutricionales. Los compuestos que se adicionan en altas concentraciones a la dieta reducen la ingesta de nutrimentos por dilución y algunos de los compuestos de prueba pueden ser antagonistas a nutrimentos específicos, especialmente a vitaminas. La concentración específica de nutrimentos en una dieta para un solo animal o para -- una colonia completa, está en función de los objetivos del experimento y de ciertos factores que afectan potencialmente sus requerimientos nutricionales (35).

7.- Ambiente de crianza. Los requerimientos nutricionales de animales criados en

ambientes estériles (libres de gérmenes o libres de patógenos específicos), difieren de aquellos criados en medios convencionales. Los experimentos realizados con ratas convencionales y libres de gérmenes alimentadas con dietas que contienen concentraciones bajas de vitaminas del complejo B, reportaron una menor reproducción en aquellas cepas libres de gérmenes que en las convencionales. También hay evidencias de que los ambientes desprovistos de microorganismos afectan el aprovechamiento de algunos constituyentes dietéticos, como por ejemplo el calcio. En estudios realizados con diferentes tipos de ratas Wistar macho adulto en relación a la ingesta, energía metabólica y pérdida por excreción, se observó que las ratas adultas libres de gérmenes excretaron un 87% más calorías en las heces que las ratas convencionales, pero esta pérdida se compensó con un 18% más de ingesta. La utilización de energía de las ratas libres de gérmenes y de las ratas convencionales fue similar (148/143 kcal/día respectivamente); sin embargo, las ratas libres de gérmenes metabolizaron solo el 71.9% de su ingesta contra un 80% de las ratas convencionales. Las ratas libres de gérmenes consumieron 33% más de agua que las ratas convencionales, mientras que ambas excretaron aproximadamente el 33% de su ingesta de agua vía heces y orina. De cualquier forma, las ratas libres de gérmenes viven con buena salud (59).

8.- Síndromes de deficiencia. Estos síndromes incluyen una gran evidencia de lesiones bioquímicas, como alteraciones de síntesis de aminoácidos, alteraciones a nivel hormonal y otras.

9.- Factores genéticos. Debido a que existen colonias abiertas, cerradas, híbridas, singénicas y halogénicas; se presentan algunas variantes en requerimientos nutricionales específicos para estos animales entre los que se encuentran: protefina, riboflavina, ácido pantoténico, magnesio y cinc (35).

Crecimiento.

Un porcentaje promedio de requerimientos nutricionales se obtuvo como resultado de los estudios con una amplia variedad de cepas de rata. Sin embargo, no se puede describir un solo nivel de funcionamiento que caracterice a todas las ratas bajo todas las condiciones; ya que cada cepa tiene diferente crecimiento y diferentes características metabólicas que pueden afectar sus requerimientos nutricionales propios (37).

Por estas razones, se construyó una curva de crecimiento (Fig. # 1) y una tabla (# 1) de reproducción con valores promedio significativos que sirven como punto de referencia, teniendo en cuenta que podrán presentarse variaciones, dependiendo de las características propias de cada cepa de animales con las que se trabaja.

La curva que se presenta en la figura # 1 corresponde al crecimiento de ratas macho y hembra de las cepas Sprague-Dowle, Long Evans y Holtzman. Esta curva se determinó utilizando pesos promedio de la rata al momento del destete (21 días de edad), en donde el peso de los machos era de 45 g y de las hembras 44 g, y a los 350 días de edad, en donde se tenían pesos de 550 g para machos y 325 g para hembras. Las otras cepas podrán dar resultados parecidos o con ligeras diferencias; esto se observa en el caso de las cepas Wistar y Yale, cuya curva de crecimiento es menor a la mencionada.

El coeficiente de variación del peso corporal de las ratas a diferentes edades - está entre 10 y 15% desde el destete a la madurez. Con grupos de 10 animales se pueden detectar diferencias en el peso corporal hasta de un 15%. La rata tiene un crecimiento continuo durante toda su vida. Zucker en 1941, observó que el crecimiento del esqueleto continúa hasta los 700 días de edad. El promedio de duración máxima de vida en el macho está entre los 700 y 800 días. Las hembras viven un 10% más - - (19). La desviación estandar de la duración máxima de vida fue de 100-200 días con un 20% como coeficiente de variación.

Reproducción.

El aparato reproductor de la hembra empieza a funcionar entre los 40 y 60 días de edad. La hembra puede quedar fértil entre los 80 y 100 días de edad o entre los 150 y 200 g de peso y volverá hacerlo por lo menos dos semanas después del destete de la camada (16). La mejor edad para reproducción está entre los 100 y 300 días de edad.

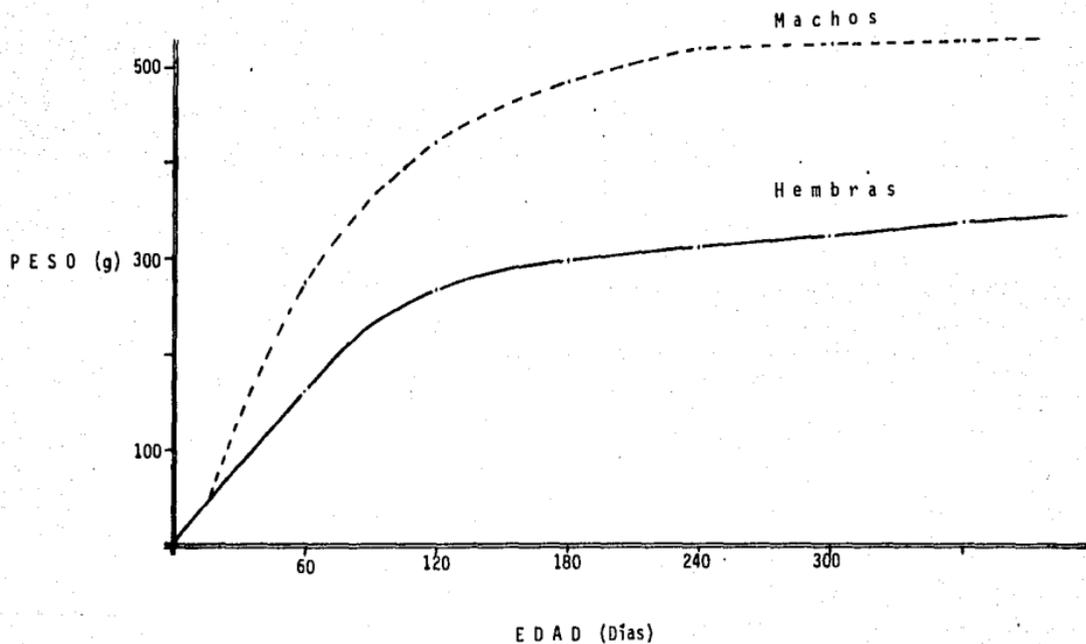
La tabla # 1 corresponde al estandar de reproducción de la rata (independientemente de la cepa), elaborada con datos promedio obtenidos en diversos estudios por diferentes investigadores (45).

La ganancia de peso total durante la gestación es directamente proporcional al número de crías en la camada, los fetos representan el 40-60% del total. De esta ganancia, aproximadamente el 60% se obtiene durante la última semana de la gestación. Cuando una madre está saludable y con una producción alta, no hay cambios drásticos en la ganancia y/o pérdida de peso. El macho empieza a ser fértil entre los 39 y 55 días de edad o entre los 200 y 250 g de peso.

Requerimiento energético.

En lo que a requerimientos energéticos se refiere se estableció que el 75% de los ingredientes de una dieta normal, se incluyen específicamente para proporcionar calorías. Si se disminuye la ingesta energética, se reduce el crecimiento y si es -

FIGURA # 1
CURVA DE CRECIMIENTO ESTANDAR PARA RATAS MACHO Y HEMBRA



Fuente: National Research Council (45)

muy severa, propicia la muerte. Si la restricción persiste durante 300 días, este animal nunca alcanzará su máxima medida y con una restricción moderada, se incrementa la longevidad (54). Un crecimiento lento retarda la pubertad, provocando una atrofia en los ovarios en la hembra y degeneración testicular en los machos.

TABLA # 1
Estandar Satisfactorio de Reproducción de la Rata de Laboratorio
para cualquier cepa (45)

	Valor	Coefficiente de variación (%)
Fertilidad de Hembras (%)	90	-
Crías por camada	8-9	30
Peso al nacer (g)	5.5-6	-
Crías detetadas (%)	90	34
Peso al destete (g) 21 días		
Macho	45	-
Hembra	44	-
Ganancia de peso de la hembra (g)		
Durante la gestación	85	-
Durante la lactación	-10 a + 10	-

La necesidad de calorías es la motivación predominante para el consumo de alimento. El consumo diario de calorías de las ratas en crecimiento, es similar cuando reciben dietas conteniendo de 0 a 30% de grasa en su dieta. Como quiera que sea, estos dos de deficiencia, reducen la ingesta de alimento. Rerat y Henry en 1963 y 1964 (53), alteraron la ingesta modificando los niveles tanto de protefmas como de vitamina B en las ratas en crecimiento, concluyendo que en el consumo calórico, el primer factor que se afecta es la velocidad de crecimiento.

- La ingesta gruesa de energía debe ser adecuada para cubrir:
- a) El metabolismo basal, el cual es elevado durante la edad temprana
 - b) La actividad, que es mayor en la juventud
 - c) Las pérdidas durante la digestión y el metabolismo
 - d) Las pérdidas necesarias para el crecimiento

En la ingesta calórica, las ratas en crecimiento consumen aproximadamente 10 g de alimento por 100 g de su peso corporal al día.

Los requerimientos calóricos durante la gestación aumentan ligeramente hasta 8 -

días antes del parto. Si en esta etapa se restringe totalmente la dieta, se reduce el tamaño y la viabilidad del embrión, induciéndose una reabsorción. Hsueh en 1967 (30), determinó que para una reproducción satisfactoria, los requerimientos de protefna son más importantes que los energéticos. El consumo de alimento voluntario se incrementa durante la gestación en un 25 a 35%. El requerimiento para lactación es el total del alimento consumido por la madre y por la camada. Normalmente las ratas lactantes empezarán a consumir apreciables cantidades de alimento después de 15-17 días de edad. El promedio total de alimento consumido por la madre y la camada es - de 2 a 3 veces más que en la ingesta pregestacional (46).

Protefnas.

Para establecer los requerimientos de protefnas y aminoácidos de cada función fisiológicas y un crecimiento óptimo de las ratas, se deben considerar tres factores:

- 1.- Concentración de energía en la dieta.
- 2.- Composición de la protefna en la dieta.
- 3.- Digestibilidad de la protefna.

Es imposible describir el porcentaje diario de protefna requerido para un crecimiento óptimo cuando la dieta incluye diferentes aportes de protefna, ya que influyen ciertos factores como:

- 1.- La cantidad de aminoácidos esenciales.
- 2.- La cantidad de aminoácidos no disponibles o de fuentes de nitrógeno no específicas.
- 3.- Disponibilidad de aminoácidos.
- 4.- Los aminoácidos que por necesidad llevan los alimentos en exceso para obtener el nivel apropiado de aminoácidos esenciales.

Los puntos 3 y 4 varían grandemente dependiendo de la fuente de protefna utilizada. Si en la formulación de una dieta, los ingredientes se seleccionan para proporcionar una adecuada cantidad de aminoácidos esenciales, niveles de 15-20% de protefna total son buenos para tener un buen desarrollo; sin embargo, en la práctica se demostró que los mejores niveles de protefna total están en un rango de 20 a 25%.

El requerimiento de protefna disminuye con la edad después del destete. Hartsook y Mitchell en 1956 (26), mediante el análisis del carcass, estimaron que los requerimientos disminuyen desde un 28% de protefna a los 30 días de edad hasta un 10% de protefna a los 50 días de edad.

Los niveles de protefna entre el 17-20% son adecuados para la reproducción y lactación si en la dieta se tiene una protefna de buena calidad. Un 5% de protefna proveniente de casefna no suplementada, indica el mínimo valor para la reproducción, -

siendo el óptimo de 15-20%. Se obtuvieron buenos resultados para reproducción y lactación utilizando niveles de proteína de 15-16% en dietas elaboradas con caseína, metionina y mezclas de cereales. Un valor de 16.7% es el adecuado en dietas donde la digestibilidad verdadera y el valor biológico de la proteína son de 84.1% y 74.1% respectivamente. Sherman en 1949, reportó un valor de 20% de proteína en una dieta que contenía productos de leche, trigo y músculo de res, para crecimiento, reproducción y lactación.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de proteína en el crecimiento del animal provoca una reducción en el crecimiento, anemia, hipoproteinemia, agotamiento de la reserva de proteína, gasto muscular; adelgazamiento y si es muy severa, la muerte. En el animal adulto se presenta una pérdida de peso y de nitrógeno corporal, así como, un edema provocado por una deficiencia crónica. El ciclo estral puede volverse irregular y hasta cesar; puede ocurrir una reabsorción fetal y la cría puede estar débil o muerta. Similarmente, la capacidad reproductiva del macho se daña. Las dietas que contienen concentraciones bajas de proteína, favorecen la reducción de la ingesta alimentaria.

Una prolongada ingesta de dieta baja en proteína produce el kwashiorkor. Si se tiene una dieta en concentración de proteína hasta de un 50%, se nulifica la eficiencia de la utilización de la proteína y se puede afectar el desarrollo sexual de la hembra principalmente (1).

Aminoácidos.

Para conocer el requerimiento de aminoácidos, es necesario considerar la energía de las dietas utilizadas así como mantener constante la relación aminoácido-caloría y permitir pequeñas variaciones en la digestibilidad de la proteína. Rama Rao en 1961 (52), estudió los requerimientos de aminoácidos esenciales para la rata, suplementando con 5% de caseína una dieta que contenía 12% de grasa.

En la tabla # 2 se presentan los requerimientos de aminoácidos, energía y grasa para la rata de laboratorio (independientemente de la cepa). Los valores dados en esta tabla sirven como punto de referencia en estudios con dietas purificadas. Los requerimientos de aminoácidos presentados aquí, se establecieron para dietas que contengan 5% de grasa.

Los valores de leucina, isoleucina, treonina, valina y fenilalanina se obtuvieron mediante el análisis del carcass y estudios nutricionales. De un tercio a un medio de los requerimientos de fenilalanina se suministra como tirosina. El valor para triptofano de 0.15% se pensó para una dieta que tuviera cantidades adecuadas de niacina (52). Chen en 1969 (13), demostró que se puede tener un nivel más bajo de arginina en dietas que contengan un alto nivel de prolina y ácido glutámico.

Breuer en 1963 (8), encontró que las dietas purificadas que contienen aminoácidos en las proporciones anteriores, no son apropiadas para un crecimiento óptimo. - La razón es porque las dietas estaban deficientes en arginina. Estudios posteriores establecieron que para un máximo crecimiento, las dietas deberfan contener asparagina, ácido glutámico y prolina; ésto debido a la incapacidad de la rata para sintetizar las cantidades requeridas para un crecimiento rápido. Sin embargo, las ratas se han adaptado a dietas desprovistas de cierto aminoácido no esencial después de un - período de tiempo. Un mal balance de aminoácidos y la presencia de antagonistas puede incrementar el requerimiento de un aminoácido en particular y los efectos en los requerimientos para un máximo crecimiento no serán muy marcados. En cambio, el efecto será considerable, en dietas que contengan niveles por debajo de los óptimos de protefna. Finalmente el efecto de este mal balance de aminoácidos disminuye la ingesta de alimento (25).

La diferencia entre el requerimiento total de nitrógeno y el requerimiento de - aminoácidos esenciales puede nivelarse con mezclas de aminoácidos no esenciales.

La serie de estudios sobre dietas no balanceadas en aminoácidos, han versado particularmente sobre la naturaleza o causa de la inducción a este desequilibrio; sin embargo, el entendimiento de los desordenes metabólicos que determinan este desequilibrio no ha progresado en la misma magnitud que éstos.

El principal efecto de una dieta no balanceada es una baja en la ingesta del alimento ya que se produce una cierta inapetencia por esta (25). La mayorfa de los investigadores relacionan esta inapetencia con un patrón anormal en la concentración de aminoácidos en el plasma de los animales alimentados con dietas no balanceadas. Esencialmente sugieren que:

- 1.- La abundancia de aminoácidos no balanceados podrfu estimular la síntesis de ciertas protefnas e inhibir otras.
- 2.- Esta desproporcionada síntesis de protefnas podrfu determinar el patrón anormal en la concentración de aminoácidos en plasma.
- 3.- La alteración del patrón de aminoácidos puede ser el causante de la inapetencia.

Por otro lado, numerosos estudios han establecido que la ingesta de alimento está muy relacionada con los requerimientos energéticos del animal.

También se ha observado que en dietas donde los aminoácidos no están balanceados se presenta una disminución en su consumo de aproximadamente 1 g por peso del animal, en comparación con una dieta control, en donde hay una menor ganancia de peso y un crecimiento retardado en los animales.

TABLA # 2
 Requerimientos Nutricionales de Aminoácidos, Energía y Grasa para
 dietas de Rata (%) (25)

NUTRIMENTOS	Crecimiento	Mantenimiento	Gestación	Lactación
Energía				
E. Total (cal)	400	400	400	400
E. Metabolizable ^a (cal)	360	360	360	360
Grasa	5	5	5	5
Ac. Grasos Esenciales ^b				
Macho	0.6	trazas	-----	-----
Hembra	0.22	trazas	0.22	0.3
Proteína neta ^c	12	4	12	12
Aminoácidos				
L-arginina	0.6	-----	0.75	0.75
L-asparagina	0.4	-----	-----	-----
L-ac. glutámico	4	-----	-----	-----
L-histidina	0.3	0.07	0.54	0.54
L-isoleucina	0.55	0.43	0.55	0.55
L-leucina	0.75	0.25	0.75	0.75
L-lisina	0.9	0.14	1.24	1.24
L-metionina ^d	0.6	0.23	0.6	1
L-fenilalanina +				
L-tirosina	0.8 ^e	0.19 ^f	0.8 ^e	0.8 ^e
L-prolina	0.4	-----	-----	-----
L-treonina	0.5	0.17	0.5	0.5
L-triptofano	0.15	0.07	0.2 ^g	0.2 ^g
L-valina	0.6	0.31	0.6	0.6
Aminoácidos no esenciales				
N ₂	0.55 ^h	0.42 ⁱ	0.87 ⁱ	0.84 ⁱ

a. Asumiendo que el 90% de la energía es metabolizable.

b. Incluido como ácido linoleico en una dieta conteniendo 4.0 kcal/g.

c. Proteína neta = $\frac{\text{Proteína neta para mantenimiento} + \text{Proteína neta para producción}}{\text{Ingesta de Proteína}} \times 100$

- d. Un tercio o un medio puede ser suplido por L-cistina.
- e. Un tercio o un medio puede ser suplido por L-tirosina.
- f. En abundantes cantidades de tirosina.
- g. El requerimiento de aminoácidos para gestación y lactación no ha sido determinado, excepto para metionina y cistina.
- h. Suministrado como mezcla de glicina, L-alanina y L-serina.
- i. Suministrado como mezcla de aminoácidos no esenciales.

Este retardo se debe principalmente a una deficiencia de lisina e isoleucina y a niveles elevados de triptofano, ya que se reduce severamente la ingesta de alimento y por tanto, una gran depresión en el crecimiento (52).

En general, las dietas que contengan alguna deficiencia en aminoácidos esenciales, provocan una reducción en la retención de proteína, en contraste con lisina y triptofano, que causan este efecto cuando se encuentran en exceso en la dieta.

Musten y colaboradores en 1976 (44), concluyeron que la ingesta de alimento en ratas destetadas, se encuentra determinada por sus requerimientos de lisina y metionina. También establecieron que, la cantidad de alimento ingerido está en función de la calidad y cantidad de la proteína que la dieta posea.

Para que haya un buen crecimiento fetal es muy importante conocer la calidad proteica de la dieta, y no tanto la cantidad de proteína que ésta contenga, pues la omisión de un aminoácido esencial o una concentración baja de éste, puede causar una disminución en el crecimiento fetal debido a una disminución en la síntesis de proteínas. Igualmente se puede afectar el transporte de aminoácidos a nivel de la placenta existiendo por esto un retraso en el crecimiento del feto.

Ahora bien, si la alimentación de la madre durante la última semana es deficiente, la cría será irremediablemente desnutrida durante una buena parte de su vida. Esto se debe a una restricción en la calidad de la proteína y a un desequilibrio de aminoácidos, principalmente de lisina, lo que provoca una disminución del DNA en el cerebro del feto.

Metcoff y colaboradores en 1981 (42), probaron que una dieta con la cantidad ideal de proteínas, suplementada con aminoácidos esenciales y con un exceso de no esenciales, retarda el crecimiento fetal. Este hecho es evidente ya que el exceso de aminoácidos no esenciales compete con la treonina en el transporte a las células causando una deficiencia en treonina.

La eliminación de un aminoácido esencial trae como consecuencia una inmediata reducción en el consumo de alimento y volverá a normalizarse después de 24 horas de -

haber adicionado el aminoácido.

Síntomas de deficiencia. Se han reportado síntomas característicos por la falta de un aminoácido en particular: a) triptofano: cataratas y vascularización de la córnea y alopecia; b) lisina: incremento de caries dental, calcificación de los huesos, ennegrecimiento de los dientes y pasos poco firmes; c) metionina: hígados grasos. La acumulación de una porfirina como pigmento en la nariz y patas, ha sido observada por deficiencia de triptofano, metionina e histidina.

Fibra.

Otro factor que hay que tomar en consideración para un buen desarrollo de las ratas, es la cantidad de fibra cruda contenida en la dieta, ya que la ausencia de ésta, puede causar problemas metabólicos y gastrointestinales.

Las dietas libres o con muy poca cantidad de fibra cruda, son limitantes para el crecimiento. Si se desea aumentar la cantidad de fibra en la dieta, la calidad de la proteína que ésta posea deberá ser buena, ya que de otra manera el animal no será capaz de adaptarse a ésta dilución (14).

Si la calidad de la proteína es mala, al aumentar la fibra a niveles óptimos es perjudicial, ya que hay menos absorción de nutrientes y por lo tanto, menor valor de la relación de eficiencia proteica (PER), en cambio, si la calidad de la proteína es buena, se puede aumentar la cantidad de fibra a niveles óptimos y tener como resultado, mayor ganancia de peso y un valor más alto de PER.

La excreción fecal de nitrógeno es directamente proporcional a la cantidad de celulosa que contenga la dieta. A medida que se aumenta la cantidad de celulosa, la pérdida de nitrógeno es mayor, disminuyendo consecuentemente la digestibilidad de la proteína. Esto se debe probablemente, a que se reduce la absorción de la proteína debido a la gran pérdida de células mucosas o enzimas digestivas, sin embargo, esta pérdida de nitrógeno tiene consecuencias mínimas si la dieta tiene proteína de buena calidad.

Carbohidratos.

Con relación a los carbohidratos, actualmente no se han establecido requerimientos específicos, sin embargo, son la principal fuente de energía en la dieta. Aunque se puede tener un desarrollo óptimo con dietas libres de carbohidratos, algunos de ellos modifican los resultados que se obtienen al trabajar con ciertas dietas. En general los carbohidratos complejos como almidón y dextrinas dan una alta velocidad de crecimiento en comparación con los mono y disacáridos solubles (1). Este efecto se demostró en dietas bajas en vitaminas y proteínas, creyéndose relacionado

con la población intestinal, la cual está más activa cuando la dieta contiene carbohidratos complejos.

Se demostró que las ratas recién destetadas consumen más alimento durante la primera semana de alimentación, cuando las dietas contienen dextrina en lugar de sacarosa. El incremento del agua en el estómago, es causado por el alto efecto osmótico de los carbohidratos simples. La xilosa es tóxica, y la capa externa del gránulo - del almidón de la papa, es resistente a las enzimas deigestivas de las ratas. También, las ratas tienen un gusto por lo dulce, ya que se ha demostrado que prefieren dietas solubles en agua conteniendo sacarosa en lugar de glucosa o una solución de sacarosa al 10% en lugar de agua simple.

Grasa.

Otro constituyente importante en la dieta de las ratas es la grasa, ya que proporciona calorías y ácidos grasos esenciales, promoviendo así, la absorción de vitaminas liposolubles.

El ácido araquidónico es un ácido graso esencial biológicamente importante ya que se involucra en el proceso de la maduración sexual en el macho. Este ácido se encuentra principalmente en el tejido animal (32) y es rápidamente sintetizado - - "in vivo", a partir del ácido linoleico, el cual se encuentra ampliamente distribuido en plantas oleaginosas, además de considerarse un ácido graso esencial importante.

El ácido linolénico promueve el crecimiento, pero es ineficiente en la curación de lesiones en la piel provocadas por una deficiencia, si es consumido solo. Cuando se consume en combinación con ácido linoleico, es tan efectivo como éste. El ácido α -linolénico (6, 9, 12-octadecatrienoico) promueve el crecimiento y es un intermedio específico en la conversión de ácido linoleico a ácido araquidónico. Holman en 1958 (27), sugirió que el término ácido graso esencial se aplica sólo a aquellos ácidos grasos que mejoran el crecimiento y alivian los cambios en la piel, por tanto la definición solo se aplica a los ácidos linoleico y araquidónico.

El requerimiento para ácidos grasos esenciales se expresa generalmente como ácido linoleico. Se sugirió que 1.3% de las calorías totales ingeridas debe ser aportado por linolatos, para las ratas macho, mientras que el 0.5% es lo recomendable para las hembras. La reproducción es satisfactoria, cuando los animales son alimentados con niveles equivalentes a los requerimientos para el crecimiento; para lactación se requiere más de 80 mg al día. Se ha demostrado con frecuencia que las dietas altas en grasas saturadas, requieren un nivel alto de linolato para un máximo desarrollo. Hay un efecto directo de los ácidos grasos saturados en la conversión -

del linolato a ácido araquidónico, pero probablemente refleja la importancia del linolato en la utilización de ácidos grasos saturados, justificando el requerimiento en relación a la densidad calórica. El ácido oleico y el colesterol, también incrementan el requerimiento de ácido linoleico. La presencia de ácido linoleico y otros ácidos grasos insaturados es esencial en las dietas para ratas especialmente para los ciclos estrógenicos normales, para la prevención testicular y para favorecer la reproducción normal (4).

La deficiencia de estos elementos en la rata en crecimiento se caracteriza por una reducción en el crecimiento, piel escamosa y áspera, pelo delgado, necrosis de la cola, daño renal y eventualmente la muerte. Se incrementa la velocidad del metabolismo basal, a veces hay incremento en la ingesta calórica y consumo de agua, - también se han reportado anomalías electrocardiográficas. en las hembras se manifiestan estros irregulares, gestación prolongada, reabsorción frecuente, difícil y prolongado parto, camadas pobres con baja viabilidad y una lactación reducida; en el macho la espermatogénesis se ve dañada. En las ratas jóvenes las lesiones de la piel se desarrollan a partir de la quinta a la doceava semana empeorando progresivamente. Estos síntomas son más severos cuando la humedad relativa disminuye de un 40-50%.

Se demostró que una de las primeras y más críticas medidas de la posición de los ácidos grasos esenciales es el nivel de ácido trienoico que se incrementa marcadamente en el músculo del corazón, en una dieta deficiente. Esta observación es útil si la dieta no contiene ácido trienoico, como se ha encontrado en el aceite de hígado de bacalao.

El síndrome de deficiencia no se produce en ratas adultas, y en caso de que se dé, hay recuperación espontánea.

La grasa y los ácidos grasos esenciales son necesarios para mejorar el desarrollo y deberan ser un componente obligatorio en las dietas. Una deficiencia de grasa solamente ocurre cuando falta un ácido esencial.

La grasa es necesaria para el crecimiento y lactación. Las hembras también alcanzan una madurez sexual a temprana edad alimentándose con dietas a las que se les ha agregado grasa. Con dietas que contienen de 10 a 11% de grasa se han mantenido de 4 a 46 generaciones una excelente reproducción y lactación. Las diferencias en reproducción y lactación son pequeñas cuando se tienen niveles de grasa de 3 a 18% en las dietas. Se presentan menos problemas en la ingesta de alimento cuando la dieta contiene 30% de grasa que con un 2%.

Se reportó que un incremento en el contenido de grasa, no mejora apreciablemente el crecimiento y que se reduce el tiempo de vida de las ratas, si se alimentan con

dietas que contengan un 20% de aceite de maíz. La reproducción se ve afectada cuando estos mismos grupos de animales siguen consumiendo dietas con este porcentaje de grasa. Cuando se agregan a las dietas cantidades moderadas de grasa, el consumo calórico se incrementa con mayor frecuencia y el carcass contiene más grasa (3). Para obtener ratas obesas, se utiliza una dieta con un nivel de grasa de 64%.

La mayoría de los nutrimentos que se consumen, se utilizan en función del metabolismo energético y por lo tanto, sus niveles se relacionan con la concentración de energía en la dieta. El nutrimento que más afecta la concentración de energía es la grasa. Las dietas experimentales para ratas varían ampliamente en su contenido de grasa, y además el rango de concentración de energía utilizado en la práctica es cuantitativamente significativo. Básicamente la cantidad de grasa está en función de la energía requerida por el animal. El nivel de grasa sugerido como estándar para todas las actividades fisiológicas es de 5%. Este valor se estableció debido a que:

a) Un mejoramiento en la retención de energía se presenta cuando un nivel de grasa se incrementa de 2 a 5%, con un consiguiente incremento en la retención de energía, que es más pequeño, que cuando el nivel de grasa es superior a 5%.

b) Se observa una reducción en el número de días en los cuales se alcanza la pubertad cuando el porcentaje de grasa en la dieta se incrementa entre 0 y 5%, y nuevamente los cambios debido al incremento de grasa son relativamente pequeños.

c) Se demostró que un 5% de grasa es satisfactorio para la absorción de caroteno y vitamina A.

d) Se reportó una ligera mejora en la camada, cuando las madres lactantes fueron alimentadas con dietas conteniendo 5.5% de grasa. Muchas grasas proporcionaron un gran número de ácidos grasos esenciales a este nivel.

Minerales.

Dentro de la formulación básica de las dietas para ratas de laboratorio, se encuentran los minerales o elementos traza, que aunque se encuentran en concentraciones muy pequeñas, son fundamentales para el crecimiento y desarrollo de estos animales.

En la tabla # 3 se presentan los requerimientos mínimos de minerales, los cuales se obtuvieron a través de numerosos estudios. Estos valores sirven como base para la elaboración de mezclas con estos nutrimentos ya que de esta manera se incorporan en las dietas.

En algunos experimentos los requerimientos se determinaron como unidades/día/animal. Este dato se convirtió a unidades por kg de dieta en base a que se estimó una

ingesta alimentaria de 10 g/rata/día para crecimiento; 20 g/rata/día para gestación y 30 g/rata/día para lactación.

TABLA # 3

Requerimientos Nutricionales de Minerales para la Rata por kg de Dieta (45)

	Crecimiento	Mantenimiento	Gestación	Lactación
N U T R I M E N T O S				
Calcio (g)	5.0	---	6.0	6.0
Cinc ^a (mg)	12.0	---	?	?
Cloro (g)	0.5	---	0.25	0.18
Cobre (mg)	5.0	---	?	?
Fósforo (g)	4.0	---	5.0	5.0
Hierro (mg)	35.0	---	?	?
Magnesio (g)	0.4	---	0.5	0.5
Manganeso (mg)	50.0	---	50.0	33.0
Potasio (g)	1.8	---	1.4	5.0
Selenio (mg)	0.04	---	?	?
Sodio (g)	0.5	---	0.5	0.5
Yodo (mg)	0.15	---	0.15	0.15

a. Cuando las ratas se encuentran individualmente en cajas de acero galvanizado, el requerimiento de cinc en la dieta es de 0.004 mg/rata/día. Cuando se utilizan dietas de soya, se requiere un valor de 18 mg/kg de dieta.

Azufre.

Este mineral no se considera como nutrimento requerido, excepto como parte de los aminoácidos azufrados y vitaminas. El sulfato de la dieta se incorpora al cartílago y ayuda a la metionina en esta acción (43). Berhardt y Tomarelli en 1966 (7), sugirieron que un nivel de 0.1% de azufre de la dieta deberá incluirse cuando la metionina esté a niveles mínimos. Con un adecuado nivel de proteína este porcentaje altera el crecimiento.

Calcio y Fósforo.

El requerimiento de calcio y fósforo para el crecimiento y calcificación del hueso es aproximadamente 0.4 y 0.5% de la dieta, con un nivel de fósforo preferiblemente más bajo que el de calcio. La proporción de calcio-fósforo está entre 1.0 y 2.0. La calcificación del hueso no siempre se incrementa con un aumento de calcio de más

de 0.8%. Las ratas con edad avanzada tienen dificultad para retener el calcio. Si a estas ratas se les cambia la concentración de calcio en la dieta, de 0.16 a 0.13%, se adaptará a la nueva dieta en 6 meses, teniendo una ingesta baja.

La reproducción se desarrolla perfectamente a niveles de 0.49% de calcio y fósforo. La lactación se mejoró con niveles más altos de calcio (Ca:P de 1.5:1.7).

Síntomas de deficiencia. El raquitismo se produce por una dieta alta en calcio y baja en fósforo. La dureza es también característica y la muerte ocurre frecuentemente dentro de 6 semanas. Con una dieta baja en calcio y alta en fósforo se produce también raquitismo aunque diferente anatómicamente. Si la proporción calcio-fósforo está en un rango de 0.6 y 2.5, y el nivel de cada uno es adecuado, el raquitismo no se observa aún cuando la vitamina D esté ausente de la dieta. Con valores superiores o inferiores a estas proporciones, el raquitismo puede presentarse y la vitamina D puede prevenirlo. Con una dieta estrictamente deficiente, el crecimiento se ve perjudicado (5).

Una dieta suplementada con aceite de hígado de bacalao en donde la proporción calcio-fósforo es aproximadamente 30:1, desarrolló lesiones en los animales experimentales. Las ratas alimentadas con esta dieta presentaron un crecimiento retardado una disminución en el consumo de alimento, un incremento en la velocidad del metabolismo basal, una reducción en su sensibilidad y actividad y se les paralizan las patas traseras. Con esta dieta anormal, los machos no pueden aparear y las hembras no lactan propiamente. Guilbert y Hart en 1930 demostraron que el fósforo a una concentración de 0.22% (proporción calcio-fósforo 4:1) retrasa el desarrollo de la madurez sexual y cesa el ciclo estral. Después de 110 días de edad, la ovulación es normal. La disminución del nivel de calcio elimina estos síntomas. La reproducción es pobre tanto con una proporción calcio-fósforo anormal, como con niveles bajos de cada uno de estos minerales.

Cuando se les proporciona a los animales una dieta deficiente en fósforo disminuyen: la disponibilidad y retención, la concentración en el suero, la excreción fecal y la aparente absorción de fósforo; así como el apetito, la ingesta energética y la eficiencia de la utilización de la energía, provocada por una disminución de la energía propia de los componentes. La energía metabolizable disminuye en un 40% a causa de una baja ingesta de alimento.

Esta misma dieta provoca que la absorción y el nivel de calcio en el suero sea mayor, que se altere la utilización de calcio y fósforo, un retraso en el desarrollo, la inapetencia por el consumo de la dieta deficiente en este mineral y un incremento en la absorción y disponibilidad de calcio. Así mismo, el cambio en la energía del metabolismo estará en función de la ingesta energética; se presenta una

disfunción del ovario y una reducción en la fertilidad. La disminución en la eficiencia reproductiva en las hembras, puede estar indirectamente asociada con una deficiencia de energía o con una mala utilización energética.

Ahora bien, un bajo nivel de fósforo no modifica la producción de calor ni la retención de energía. Sin embargo, si la ingesta se restringe, estas funciones se ven disminuidas.

La mala utilización de energía en estas dietas, se relaciona directamente con una reducción en la ingesta y digestibilidad de la energía (21).

Cinc.

Se han establecido valores para el requerimiento de cinc entre 15 y 42 μg /rata - al día. Si las ratas se mantienen en sus cajas individuales, no más de 2-4 mg/kg de dieta se necesitan. Las ratas mantenidas en un ambiente libre de cinc y alimentadas con una dieta basada en caseína o huevo requieren un mínimo de 12 mg/kg de dieta para una ganancia máxima de peso (17). El requerimiento aumenta (18 mg/kg de dieta) - cuando se utiliza proteína de soja.

Síntomas de deficiencia. Una inadecuada ingesta de cinc, retarda el crecimiento. Se produce una ligera anorexia, alopecia e hiperirritabilidad. Las lesiones cutáneas se caracterizan por una epidermis espesa y hay pérdida de los folículos del pelo (56). El pelo se vuelve suave, lanoso y eventualmente gris. También el metabolismo basal se puede incrementar. Cuando las hembras se alimentan con menos de 2 ppm de cinc, ocurre una severa disrupción del ciclo estral y en la mayoría de los casos no hay apareamiento con machos normales. Una dieta con menos de 0.5 μg /g de alimento proporcionada a machos en crecimiento, impide la espermatogénesis y resulta una atrofia en el epitelio germinal. Se reduce el crecimiento de la pituitaria y órganos sexuales. Si la atrofia del epitelio germinal y del epidídimo es suficiente, el daño no es reparable si hay suplementación con cinc. Cuando la dieta está deficiente de cinc, el crecimiento de los órganos sexuales es promovido por las gonadotropinas.

Cloro.

En cuanto a los requerimientos mínimos de cloro se refiere, el valor establecido para el crecimiento de la rata es de 0.25 g en la dieta, con el cual se tiene un desarrollo satisfactorio.

La rata conserva su suministro de cloro por una reducción drástica de la excreción urinaria dentro de las horas de consumo de una dieta deficiente en este elemento. Como resultado, los síntomas son menos notorios y requieren de un largo período de privación de cloro para que se desarrollen éstos.

Síntomas de deficiencia. En una dieta que contiene 0.02% de cloro, hay como res-

puesta del animal, una depresión del apetito y una reducción de la ganancia de nitrógeno y energía del cuerpo. El consumo de agua y la producción de calor se incrementa cuando la ingestión y absorción se restablece. En una dieta donde el cloro está en un nivel de 0.012%, no se presentan síntomas drásticos excepto por un crecimiento pobre, una reducción en el cloro sanguíneo y en la excreción de cloro. Después de alimentar a los animales durante un año con una dieta que contenga 0.005% de cloro, se presenta un marcado daño en el riñón, además de un crecimiento y una eficiencia alimentaria pobre.

Cobalto.

Para el cobalto, constituyente de la vitamina B₁₂, no se tienen requerimientos, pues aparentemente no es necesario para la rata (39).

Cromo.

En relación a los requerimientos de cromo, se demostró que todos los signos de insuficiencia de este mineral, se evitan incluyendo de 2 a 5 ppm de cromo trivalente en el agua de uso. Ciertos estudios sugirieron que bajo una dieta estricta y determinadas condiciones ambientales, el cromo trivalente puede ser un nutrimento requerido.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia se observó cuando las ratas dieron respuestas tardías a la tolerancia de glucosa (41). Las dietas que contienen niveles de cromo de 0.17 µg/g de dieta, provocan en los animales hiperglucemia y glucosuria similar a la diabetes mellitus. La madurez total en el peso del macho y el tiempo máximo de vida se incrementa ligeramente. Los animales alimentados con una dieta que contenga un 10% de soya, desarrollan una opacidad corneal la cual, puede desaparecer por la adición de cromo.

Fluor.

El fluor es un elemento aparentemente no requerido ya que se demostró que 4 generaciones de ratas se han desarrollado normalmente cuando ingieren una dieta que contiene menos de 0.007 ppm de este mineral.

Hierro y Cobre.

El requerimiento de hierro para el crecimiento y para un máximo nivel de hemoglobina es de 35 mg/kg de dieta (38). Los valores de requerimientos mínimos de cobre han variado entre 0.01 y 0.143 mg/rata/dfa, estableciéndose un valor promedio de 0.05 mg/rata/dfa. Cantidades ligeramente altas de cobre (0.05 y 0.96 mg/rata/dfa) se necesitan para prevenir acromatismo. La cantidad esencial para prevenir esta condición es de 0.1 mg/rata/dfa.

No se han establecido valores de requerimiento de hierro y cobre para la reproducción de la rata. Se observó que a niveles de 240 mg de hierro/kg de dieta dieron

una reproducción satisfactoria por 3 generaciones (38).

La concentración de hierro en el feto no se modifica en la etapa gestacional, por el tamaño del feto ni por los niveles de este elemento en la madre. El tamaño del feto es un factor determinante en el almacenaje total de hierro en el hígado. Si la madre está anémica, el hierro preferentemente se transfiere al feto. Los animales prematuros y normales de bajo peso, tienen mayor riesgo de ser anémicos ya que su hígado es muy pequeño y por tanto, se reduce el almacenamiento de hierro. Gran parte del hierro presente en el hígado al momento del nacimiento, disminuye durante la lactancia, para mantener la síntesis de hemoglobina (51). La cantidad de hierro en el hígado varía dependiendo del tamaño del feto y del tamaño del hígado (48).

Síntomas de deficiencia. Una deficiencia tanto de hierro como de cobre provoca una anemia hipocrómica de tipo microcítica (56). Las ratas deficientes en hierro desarrollan cardiomegalia, esplenomegalia y una coloración blanca en los incisivos. Las ratas de pelo negro que se alimentan con una dieta deficiente en cobre o hierro desarrollan acromatosis, involucrándose en este efecto al ácido pantoténico.

Cuando se les proporciona a las ratas una dieta con leche entera suplementada con manganeso, se notan efectos que trascienden hasta las crías, desapareciendo éstos, cuando se les suministra hierro y cobre. La deficiencia de hierro produce anemia en la madre, resultando las crías anémicas e incapaces de vivir. Una deficiencia de cobre no produce anemia, pero la madre tiene crías severamente anémicas, caracterizadas por edema y hemorragias subcutáneas diseminadas (45).

Magnesio.

El requerimiento de este mineral para el crecimiento está entre 50 y 60 mg/kg. Un valor de 200 mg/kg de dieta se estableció como requerimiento, tomando en cuenta al magnesio de la sangre. Se realizaron estudios de la influencia del magnesio de la dieta sobre el crecimiento de ratas recién destetadas y su nivel en el hueso y en la sangre. Se propuso que 100 mg/kg eran adecuados para mantener un crecimiento normal; de 350 a 425 mg de magnesio/kg de dieta, eran necesarios para mantener los niveles normales de magnesio en la sangre. Así, 400 mg de magnesio/kg de dieta, es el requerimiento para el crecimiento de la rata y para el mantenimiento es de 2 mg/kg de peso/día o alrededor de 0.005% de la dieta (55). Para lactación y gestación se estableció un requerimiento de 500 mg/kg de dieta.

La retención del magnesio se incrementa cuando las ratas son alimentadas con dietas que contienen altas concentraciones de este mineral. Aparentemente la absorción y retención del magnesio se incrementa con la adición de potasio y/o sodio a la dieta. Así mismo, la suplementación con potasio en forma de carbonato de potasio - - -

(K_2CO_3), no disminuye la disponibilidad del magnesio. La velocidad de absorción del magnesio se incrementa en el segmento del duodeno al ileon. Esta absorción se relaciona con el movimiento del volumen del agua a través del intestino. Este puede ser un factor determinante para que la absorción se incremente cuando se alimentan a los animales con dietas conteniendo niveles altos de potasio.

El magnesio se absorbe mejor cuando se tienen pequeñas cantidades de este elemento en la dieta siendo mínima la cantidad que se excreta en heces y orina. Una concentración normal de magnesio en la dieta, no altera la excreción de potasio tanto por vía fecal como por vía urinaria. Cuando se tienen concentraciones altas de magnesio en la dieta, se disminuye la absorción de potasio. Si existen niveles elevados de potasio, las cantidades de magnesio encontradas en las heces serán pequeñas. La adición de sodio no modifica este efecto.

Síntomas de deficiencia. Al alimentar animales con dietas deficientes en magnesio la retención de este mineral disminuye. La absorción de magnesio disminuye cuando hay un incremento en la concentración de calcio en la sangre, provocándose paralelamente una disminución en la absorción neta de sodio.

La deficiencia de magnesio en el crecimiento de la rata provoca vasodilatación, hiperirritabilidad, arritmia cardíaca, espasticidad y convulsión fatal. La vasodilatación se presenta después de ingerir por una semana la dieta y puede desaparecer espontáneamente dentro de un período corto de restablecimiento. Las convulsiones ocurren entre los 21 y 30 días (36). La deficiencia trae eventualmente una muerte repentina. La calcificación del riñón es un signo post-mortem muy común. Se reportó que las madres alimentadas con una dieta deficiente pueden procrear satisfactoriamente, pero no pueden amamantar a sus crías.

Manganeso.

El requerimiento para el crecimiento no había sido estudiado adecuadamente hasta que Anderson y Parker en 1955 establecieron que para esta función se requiere de 0.5 mg/rata al día ó 50 mg/kg de dieta. Este valor también se utiliza como referencia para gestación.

El requerimiento para una reproducción y lactación satisfactorias está en un rango de 0.35 y 1.2 mg/rata al día; especificando que 33 mg/kg de dieta se requieren para lactación (45).

Síntomas de deficiencia. Un inadecuado nivel de manganeso en la dieta se caracteriza por tener ratas con crecimiento pobre y defectuosa mineralización del hueso. El consumo de alimento disminuye y se presenta una mortalidad temprana. La reproducción se afecta debido a una degeneración testicular en el macho y a una ovulación defectuosa en la hembra. Si se logra la reproducción, varias crías resultan parálisis.

ticas y sin coordinación. La lactación aparentemente no se ve afectada puesto que las hembras deficientes en manganeso pueden amamantar satisfactoriamente a sus crías. Sin embargo, estas crías tienen anomalías en su esqueleto y su muerte resulta aparentemente por falta de viabilidad (56).

Molibdeno.

El molibdeno forma parte de la xantina oxidasa (enzima del hígado) y puede considerarse como nutrimento requerido. Si las ratas se alimentan con dietas que contengan aproximadamente 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dieta (aproximadamente 0.2 $\mu\text{g}/\text{rata}$ al día) o se inhibe la acción de la xantina oxidasa con tungstato de sodio, no se presentan signos problemáticos ni daños en el crecimiento o en la reproducción. En base a esta información por tanto, no es posible establecer el requerimiento de este elemento.

Potasio.

El requerimiento para el crecimiento es de 0.17-0.18% de la dieta. Para lactación es de 0.5% de la dieta y 0.14% es suficiente para reproducción. Aparentemente se aumenta la absorción y disponibilidad de potasio cuando se añade más cantidad de éste a la dieta. La adición de sodio a dietas con concentraciones elevadas de potasio, no modifica la absorción de potasio. Como quiera que sea, la adición de sodio tiende a incrementar la retención de potasio (57).

La insuficiencia de potasio tiene una respuesta muy marcada en la reducción del apetito y un crecimiento insignificante. Los animales se vuelven letárgicos y comatosos, llegando a la muerte en 3 semanas. Tienen una apariencia desaliñada, piel cianótica, poco pelo, diarrea y abdomen distendido. Exámenes post-mortem revelan ascitis y frecuentemente hidrotorax. Robbins en 1965 demostró que un nivel de 0.1% de potasio en la dieta, da como resultado una pérdida simétrica del pelo a lo largo de la espalda.

Sodio.

El requerimiento de sodio es de 0.05% de la dieta y es independiente de la ingesta de potasio. Las hembras fértiles alimentadas con dietas bajas en sodio (0.03%) consumen menos alimento y muestran grados de languidez y debilidad, los cuales se pronuncian más durante la última semana de gestación. Sin embargo, la reproducción no se ve afectada a estas concentraciones (34).

Ganguli en 1969 (20), estableció que el requerimiento para gestación y lactación es de 0.05% de la dieta.

La ingesta de magnesio o potasio no altera el balance de sodio en las ratas. La adición de sodio a la dieta, incrementa la absorción y retención, así como la excreción de este mineral (57).

Síntomas de deficiencia. Los animales alimentados con una dieta que contiene - -

0.002% de sodio, presentan un crecimiento retardado y disturbios en los ojos incluyendo lesiones corneales. El macho se vuelve infértil después de 2 o 3 meses y la madurez sexual se retrasa en las hembras. Los huesos son suaves y muchos tejidos se afectan. La muerte ocurre en 4-6 semanas. Kahlenburg en 1937 demostró que con un 0.007% de sodio en la dieta se nota una reducción en el apetito, crecimiento pobre, incremento en la producción de calor y reducción en el almacenamiento de energía, grasa y proteína. La digestibilidad es normal.

Vitaminas.

Las vitaminas son otros de los nutrimentos de gran importancia dentro de las dietas balanceadas para animales de laboratorio, sus requerimientos se presentan en la tabla # 4. Estas, se dividen en dos grupos dependiendo de su solubilidad: Oleosolubles e Hidrosolubles.

Vitaminas Oleosolubles.

Vitamina A.

En 1940 se demostró que la necesidad de vitamina A se relaciona con el peso corporal más que con la ingesta calórica. Esto es porque la vitamina se relaciona con el mantenimiento de la integridad del epitelio del cuerpo el cual por sí mismo, se correlaciona con la masa corporal. El principal problema para establecer el requerimiento preciso de vitamina A, es el saber seleccionar el criterio adecuado para su medición. Goss y Guilbert en 1939 demostraron que 20 UI/kg de rata al día, es suficiente para prevenir la queratinización anormal del epitelio vaginal; 250 UI/kg de rata al día, dan un máximo crecimiento y además trazas que se acumulan en el hígado con 500 UI/kg se alcanzan niveles máximos en la sangre y además una cantidad moderada que se almacena en el hígado. 100 UI/kg de rata al día se necesitan para obtener un valor máximo de ganancia y longevidad. Con dietas que contienen 12,000 UI/kg de dieta o aproximadamente 1,200 UI/kg de peso corporal, se tiene ligeramente más ganancia de peso y mayor longevidad. Fraps en 1947 alimentó a ratas con dietas conteniendo niveles mayores de 8 ppm de β -caroteno de alfalfa observando que el número de camadas y crías, el porcentaje de crías vivas y el peso de las crías destetadas fue mayor. Asumiendo que 1 UI de vitamina A es equivalente a 0.6 μ g de caroteno esta concentración equivaldrá a 13,000 UI/kg de dieta.

El requerimiento mínimo para el crecimiento deberá ser aproximadamente 200 UI/kg de rata al día o 2,000 UI/kg de dieta. Este nivel deberá dar excelentes ganancias, longevidad óptima y algunas trazas para almacenar en el hígado. Para reproducción el requerimiento es de 1,200 UI/kg de peso corporal o 12,000 UI/kg de dieta. Estos valores están en exceso para prevenir los síntomas evidentes de deficiencia.

Síntomas de deficiencia. Se caracterizan por malformaciones en la estructura epitelial y en los cartílagos epifísicos, seguida de una depresión en el crecimiento general. Los tejidos epiteliales se queratinizan, hay una desorganización en la estructura dental que causa un daño en el crecimiento de los dientes, además de pérdida del color naranja normal. El retardo del crecimiento del esqueleto, causa una compresión del cerebro, de la médula espinal y de las terminaciones nerviosas. Posteriormente aparece una hernia en el cerebro con consecuente lesión mecánica del mismo y de las terminaciones nerviosas, que causan una incoordinación en 5-6 semanas en las ratas destetadas.

La vitamina A como parte integral de la rodopsina, es esencial para la visión y un estado de deficiencia produce ceguera nocturna. La xeroftalmia se nota por un exudado rojo en el párpado, después sigue una opacidad corneal y una distorsión general en el borde del ojo.

En la hembra no hay reproducción y en el macho se presenta degeneración testicular.

Vitamina D.

La vitamina D se relaciona con el calcio y el fósforo. Los efectos metabólicos dependen grandemente uno de los otros. El desarrollo del animal depende tanto de cantidades absolutas como relativas de ellos. No existen datos para sugerir que la vitamina D es requerida por la rata para su desarrollo normal en presencia de cantidades adecuadas de calcio y fósforo. Se observó una mejoría en casi todos los criterios del metabolismo calcio-fósforo cuando la dieta contenía 300 UI de vitamina D/100 g de alimento. Becker y Hoekstra en 1966 (5), demostraron que se mejora el crecimiento significativamente cuando se alimentan a las ratas con un nivel de 1,000 UI/kg de dieta altamente purificada en ausencia de luz fluorescente.

Vitamina E.

El requerimiento de vitamina E se puede afectar por variaciones de los niveles en la dieta de aminoácidos azufrados, selenio y grasa. El requerimiento está relacionado con los niveles altos y bajos de grasa en la dieta que no alteren grandemente la composición de ácidos grasos y el tejido adiposo (24). El nivel de oxidación de los ácidos grasos ingeridos o almacenados en el tejido, es un factor crítico para el requerimiento. Esto tiene especial significado cuando se tiene una ingesta baja de ácido linoleico.

Se han realizado numerosas investigaciones con dietas balanceadas donde se han establecido valores para las diferentes funciones de las cuales; para prevenir necrosis del hígado, se requiere de 30 mg/kg de dieta; la prevención de cretinuria por 20 semanas se logra con 10 mg/kg de dieta; para la prevención de hemólisis eri-

trofítica se necesitan 35 mg/kg de dieta. Las hembras requieren 1/3 menos de 36 mg/kg de dieta para prevenir hemólisis eritrocítica. Para la reproducción se utilizan 0.07 mg/rata al día. Después de realizar un extenso estudio sobre el requerimiento de vitamina E se estableció un valor de 0.64 mg de acetato de tocoferol/rata al día el cual es el nivel satisfactorio para prevenir todos los síntomas creados por la deficiencia de esta vitamina. Por lo tanto, se estableció un nivel de 30 mg/kg de dieta. Los valores que se establecieron como punto de referencia después de estos estudios fueron de 35 y 30 mg/kg de dieta para crecimiento y gestación respectivamente. El valor para lactación es de 20 mg/kg de dieta. En la literatura se encuentran valores desde 50 a 200 mg de vitamina E/kg. Un nivel de 40 µg de selenita de selenio por kg de dieta se debe de mantener para prevenir degeneración necrótica del hígado.

El crecimiento máximo requiere no más de 150 µg/kg de dieta. Con el requerimiento de vitamina E ya establecido, es difícil proponer un requerimiento para selenio (40).

Síntomas de deficiencia. En el macho se presenta una degeneración irreversible del epitelio seminífero que ocurre entre los 40 a 50 días de edad. La hembra exhibe muerte intrauterina y reabsorción fetal (esta condición no es permanente). Son comunes las anomalías fetales. Si las crías nacen pueden sufrir parálisis repentina y lactación tardía después de 18 días de nacidas. Este síndrome se caracteriza por un cierre de la pata trasera, debilitamiento y arrastre de las extremidades, inhabilidad para recobrar la postura, disminución de la respiración y de la temperatura del cuerpo, indiferencia y muerte. Los músculos del esqueleto están distróficos, pálidos y esquémicos. Las crías que no sucumben pueden desarrollar distrofia crónica después de 5-6 meses, en donde hay tambaleo y paso incoordinado.

Hay necrosis cristalina del músculo cardíaco, mientras que los músculos lisos especialmente aquellos del útero, tienden a acumular un pigmento amarillo. El diente incisivo pierde su color amarillo. El ácido dialúrico hemolizará la sangre de los animales deficientes.

La degeneración necrótica del hígado producida por la dieta se desarrolla en 45-55 días post-destete y los cambios microscópicos drásticos en el hígado aparecen 1 o 2 días antes de la muerte. También se presentan convulsiones después de un período de respiración muy lento cuando hay deficiencia de vitamina E y selenio. La vitamina E previene la necrosis del hígado (58). El selenio inorgánico en forma de selenato de sodio es 500 veces tan activo como el mismo peso de la vitamina E. Los compuestos de selenio no previenen la reabsorción, ni la pigmentación del diente incisivo.

Vitamina K.

Una dosis de 0.5 μg de vitamina K o 10 μg de menadiona/kg de rata es el adecuado para establecer el tiempo normal de protrombina dentro de 18 horas cuando se ha prevenido la coprofagia en las ratas. Si se utilizan dietas que contengan caseína, el requerimiento para mantener los niveles normales de protrombina es menor de 50 mg/kg de dieta. En condiciones estériles, el requerimiento es de 200 μg de vitamina K₁/kg de dieta (22) y para prevenir la coprofagia, las ratas normales requieren 10 μg . La menadiona tiene alrededor de la décima parte de la actividad de la vitamina K.

Se estableció un valor promedio de 50 $\mu\text{g}/100$ g de dieta, aunque para todas las ratas no era conveniente esta concentración. No se conocen datos para la gestación y lactación.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de vitamina K reduce el nivel de protrombina en la sangre, incrementando el tiempo de coagulación. La hembra es más resistente a la deficiencia. Aunque la vitamina K es sintetizada por el tracto gastrointestinal, la deficiencia se puede inducir pronto por la alimentación de sulfonamidas. Se han presentado casos de hipoprotrombinemia bajo regímenes normales de alimentación utilizando dietas deficientes en vitamina K, pero se observó que sólo parte de las ratas presentaban este síntoma después de períodos prolongados de privación. En un experimento, se alimentaron a ratas con dietas deficientes que contenían proteína de soya en lugar de caseína, y se obtuvo una disminución en los niveles de protrombina.

Vitaminas Hidrosolubles.

Ácido Ascórbico.

Las ratas no requieren en la dieta una fuente de ácido ascórbico aunque se demostró que reduce ciertos síntomas de deficiencia por vitamina B (29) además de relacionarse con la absorción de hierro.

Biotina.

Cuando las condiciones de alimentación son normales, no se presentan síntomas por deficiencia de biotina. El animal obtiene sus requerimientos de biotina a través de la síntesis intestinal. Los animales alimentados con una dieta que contenga huevo blanco crudo, no desarrollan los síndromes de deficiencia. Nelson y Evans en 1948 sugirieron que al agregar 300 μg de biotina a un kg de dieta que no contenga huevo blanco crudo o sulfonamidas, mejora la lactación, teniendo como evidencia un aumento del 10% en el peso de los animales destetados.

Síntomas de deficiencia. El uso de huevo blanco crudo a niveles tan bajos como 5% en la dieta o el uso de 1% de sulfonamidas, provoca un síndrome de deficiencia.

La deficiencia se caracteriza por una dermatitis exfoliativa. También se desarrolla alopecia y acromotricia. Algunos animales presentan un paso espástico o una postura como de canguro. La biotina es requerida metabólicamente para la gestación y probablemente es un factor en la lactación.

Colina.

El requerimiento de colina está afectado por los niveles de vitamina B₁₂ y ácido fólico. El requerimiento también se eleva cuando hay incremento de grasa en la dieta. Griffith en 1941 demostró que las dietas que contienen más de 0.8% de metionina previenen lesiones renales en ausencia de colina. Una dieta con una mínima cantidad de metionina, requiere de colina para prevenir daños renales. El requerimiento para la prevención de hígados con exceso de grasa, es el doble del requerido para prevenir las lesiones renales.

Para prevenir estas lesiones, de 5 a 10 mg de cloruro de colina/rata diarios o 0-5-1.0 g/kg de dieta son suficientes. Se ha recomendado que el requerimiento deberá ser de 1.0 g/kg de dieta. Por el hecho de no encontrarse ningún síntoma de deficiencia al alimentar animales con dietas a estas proporciones, este valor se considera como referencia para las investigaciones e incluso, se piensa que esta nivel está en exceso.

El requerimiento establecido como estándar es de 750 mg/kg de dieta, el cual es idéntico al sugerido por Mulforo y Griffith en 1942 para dietas conteniendo 18% de caseína y 19% de lardo. Se recomiendan 15 mg/rata/día para lactación. Otras investigaciones probaron que las dietas purificadas que contienen 1.0-4.0 g/kg de dieta, han dado buenos resultados.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de colina se caracteriza por un síndrome crítico en ratas recién destetadas que ocurre entre 6 y 8 días después de iniciado el estudio. La infiltración de grasa en el hígado, se presenta en 48 horas y alcanza un máximo después de 4 a 6 días. Entre el 60. y 80. día, se desarrolla un marcado crecimiento y una degeneración hemorrágica del riñón. La deficiencia afecta al macho más rápido y severamente, lo que se nota a los 30 días de edad. En la rata adulta un hígado con exceso de grasa, es una característica de una inadecuada ingesta.

Folacina.

Una dieta libre de folacina no produce síndrome de deficiencia, puesto que la síntesis de folacina en el intestino es suficiente para el crecimiento. Existe la posibilidad de que la síntesis intestinal es inadecuada para el "stress" de la lactación. Dosis profilácticas de 33-81 µg/hembra/día, incrementan el peso corporal y la cantidad de leucocitos circulantes cuando la hembra está gestando. Las dietas pu

rificadas frecuentemente contienen 0.5-4.0 mg/kg de dieta.

Síntomas de deficiencia. La inclusión de una sulfonamida para inhibir la síntesis intestinal, provoca un estado característico de deficiencia, esto es, un crecimiento pobre, leucopenia, granulocitopenia y anemia. También se presenta diarrea, un exudado alrededor de los ojos y el pelo es áspero. Cuando se previene la coprofa-gia, el crecimiento se mejora por la inclusión de ácido fólico.

Inositol.

El inositol es una vitamina no requerida por la rata. La rata aparentemente ob-tiene suficiente cantidad de esta vitamina tanto de la síntesis bacteriana en el in-testino como de la síntesis de los tejidos. Una alopecia se ha reportado cuando se reduce la síntesis intestinal por las sulfonamidas. Varias dietas experimentales -contienen entre 100 y 1,000 mg/kg de dieta.

Niacina.

El triptofano es el precursor de la niacina. Por lo tanto, el requerimiento de -niacina está predeterminado por la cantidad de triptofano en la dieta. El requeri-miento mínimo de triptofano es de 0.15% cuando se da una dieta con exceso de niaci-na. Hundley en 1947 demostró que los animales que reciben dietas con 15% de casefna (0.202% de triptofano) responden ligeramente al agregar niacina a la dieta, mien---tras que aquellos que reciben dietas con 20% de casefna (0.27% de triptofano) no. -Desde que se ha demostrado que 33-40 mg de triptofano producen 1.0 mg de niacina -"in vivo", se puede concluir que el triptofano en exceso en la dieta de 15% de ca-sefna es equivalente a 13 mg de niacina/kg de dieta; mientras que en la dieta de -20% de casefna, el exceso de triptofano equivale a 30 mg de niacina. El requerimien-to, por tanto, está entre 13 y 30 mg de niacina, cuando se suministra una mínima -cantidad de triptofano. En la tabla # 4 se enlista un nivel de niacina de 15 mg/kg de dieta con un nivel mínimo de triptofano. No se han establecido requerimientos pa-rra reproducción y lactación. Algunos investigadores frecuentemente incluyen de 20 a 100 mg de niacina/kg de dieta.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de niacina en dietas bajas en proteínas o triptofano, produce un crecimiento pobre, pelo áspero, cambio ocasional en los -bigotes y alopecia. Hay pérdida de peso en las ratas jóvenes y adultas, acompañada de anorexia. La muerte se presenta eventualmente existiendo también problemas en la reproducción y lactación.

Acido Pantoténico.

Los requerimientos de esta vitamina se han estudiado ampliamente. Barboriak en -1957 reportó que 8.0 mg de pantotenato de calcio/kg de dieta, es un nivel adecuado para el crecimiento, para el mantenimiento de reacciones de acetilación en la rata

TABLA # 4

Requerimientos Nutricionales de Vitaminas para la Rata por kg de Dieta (45)

NUTRIMENTOS	Crecimiento	Mantenimiento	Gestación	Lactación
Vitamina A ^a				
(mg/retinol/kg)	0.6	---	3.6	3.6
Vitamina D (UI/kg)	1,000.0	---	---	---
Vitamina E (α-tocoferol) (mg/kg)	35.0	---	30.0	20.0
Vitamina K ^b (vitamina K ₁) (mg/kg)	0.05	---	---	---
Cloruro de Colina (mg/kg)	750.0	---	1,000.0	1,000.0
Niacina ^c (mg/kg)	15.0	---	?	?
Pantotenato de calcio ^d (mg/kg)	8.0	---	8.0	10.0
Riboflavina (mg/kg)	2.5	---	4.0	4.0
Clorhidrato de Tiamina (mg/kg)	1.25	---	2.5	4.0
Vitamina B ₆ (Clorhidrato de Piridoxina) (mg/kg)	7.0	---	0.6	0.4
Vitamina B ₁₂ (mg/kg)	0.005	---	0.005	0.005

a. Una UI de vitamina A equivale a 0.3 mg de retinol.

b. Las ratas que reciban dietas sin vitamina K, no desarrollan la sintomatología característica de la deficiencia, a menos que una sulfonamida esté presente en la dieta y suprima la síntesis de la vitamina en el tracto gastrointestinal.

c. Asumiendo que no hay más de 0.5% de triptofano en la dieta.

d. Un nivel de 8 mg de pantotenato de calcio/kg de dieta es suficiente para que una rata adulta sea capaz de cumplir con reacciones de acetilación en los tejidos.

adulta y para la reproducción. Este valor es cercano al promedio de los resultados de 8 estudios en crecimiento y 3 en reproducción. El requerimiento para lactación - lo estudiaron Nelson y Evans en 1961 (47), y reportaron que se requiere de 10 mg/kg

de dieta para esta función. Los niveles encontrados en dietas purificadas, están entre 15 y 66 mg/kg de dieta.

Síntomas de deficiencia. Las cantidades inadecuadas de ácido pantoténico provocan un crecimiento pobre y acromatricia en las ratas de pelo pigmentado. Hay dermatitis de tipo exfoliativa, que se agrava cuando la humedad relativa es menor del 50%. Los bigotes y pelo de la rata se manchan con compuestos de porfirina de las glándulas harderianas. Los ojos se cierran por un exudado pegajoso y hay paso espástico. Los animales sucumben en 4-10 semanas. Frecuentemente hay anemia y daño adrenal; la reproducción también se afecta con reducción de la fertilidad, dando crías de tamaño corto y lento crecimiento de las camadas (2). En ciertos estudios de reproducción la gestación se afecta cuando se ha suministrado una dieta deficiente desde el día del apareamiento. No hay síntomas adversos cuando el ácido pantoténico se administra a mitad de la gestación. Los animales quedan anatómicamente dañados por la deficiencia (2).

Ácido Paraaminobenzoico.

La deficiencia del ácido paraaminobenzoico ha sido implicada en la producción de acromatricia en ratas negras. El requerimiento de esta vitamina no se ha demostrado bajo condiciones normales de alimentación. Se incluyó entre 10 y 300 mg de este ácido por kg de dieta sin tener efectos perjudiciales.

Riboflavina.

Los requerimientos de riboflavina para crecimiento están entre 12 y 40 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$, del cual entre 20 y 30 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$, es un nivel preponderante. Se estableció un promedio de 25 $\mu\text{g}/\text{día}$ o 2.5 mg/kg de dieta. Como la riboflavina está involucrada bioquímicamente en la utilización de energía, el requerimiento se ha asociado con la ingesta calórica. El requerimiento puede ser expresado correctamente como 0.7-0.8 mg/1000 kcal de dieta (20). El requerimiento para lactación y gestación está entre 36 y 90 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$. Everson en 1951 indicó que la necesidad de agregar riboflavina no es crítica hasta 2-3 días antes del nacimiento, que es cuando se debe alcanzar un valor de 75 $\mu\text{g}/\text{día}$. En el único estudio para lactación realizado, se reportó un requerimiento de 120 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$. El nivel de 4 mg/kg de dieta, provee esta concentración. Se encontraron niveles de 4 a 22 mg/kg en dietas purificadas.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de riboflavina reduce el crecimiento, modifica el apetito y provoca una dermatitis no específica en las extremidades. Puede haber un exudado alrededor de los ojos, alopecia, conjuntivitis, cataratas y vascularización de la córnea. En la hembra, el ciclo estral se daña, siendo irreversible después de 10 semanas. En el macho ocurre atrofia testicular.

Tiamina.

La mínima cantidad de tiamina necesaria para el crecimiento, depende de la edad de la rata y del contenido de grasa de la dieta. Ratas de más de 21 meses de edad - requieren 2.0 mg/kg de dieta; mientras que las de 2 meses requieren 1.2-1.6 mg/kg - de dieta. El aumento en el requerimiento en los animales viejos, probablemente se - deba á una reducción en la eficiencia de la absorción. Dietas que contienen 10% de grasa, requieren por lo menos 10 μ g/rata/día, mientras que con dietas de más de 60% de grasa, se necesitan 8 μ g/día. Datos de 0.8 y 1.6 mg de tiamina/kg de dieta, se - sugieren para dietas con menos de 20% de grasa. El valor que se toma como referen- - cia en las investigaciones es de 1.25 mg/kg de dieta. Para la reproducción el requ- - rimiento se incrementa a 75 μ g/rata/día en los 2-3 últimos días de gestación. Brown y Snodgrass en 1965 (10), demostraron que 25 mg/kg de dieta o una ingesta de 50 μ g/ - rata/día es satisfactorio para una gestación normal. Para lactación, el requerimien- - to es de 120 μ g/rata/día o 4 mg/kg de dieta. Algunos investigadores propusieron un - rango de 4 a 22 mg/kg de dieta para asegurar una ingesta abundante.

Síntomas de deficiencia. Una dieta baja en tiamina provoca una marcada anorexia, crecimiento pobre o pérdida de peso. El piruvato en la sangre se incrementa y la ve- - locidad del corazón se reduce hasta un 50%. Se desarrolla un síndrome nervioso ca- - racterizado por un giro lento de la cabeza del animal o vueltas en círculo del ani- - mal. El ciclo estral en la hembra se vuelve irregular. Si las hembras se alimentan - con una dieta deficiente antes del apareamiento (1-3 semanas) la reproducción es po- - bre, los pesos de las crías son anormales y mueren las ratas jóvenes. También hay - muerte fetal temprana y falla en la implantación o reabsorción.

Vitamina B₆

El valor más reciente de requerimiento para el crecimiento está entre 8 y 25 μ g/ - rata/día. Beaton y Cheney en 1965 (4), determinaron el requerimiento en una dieta - de 20% de caseína y 20% de grasa estableciéndolo en 7.0 mg/kg de dieta. Este valor - mantiene una ganancia máxima; pero puede ser demasiado alto cuando se utilizan die- - tas bajas en proteína y energía. Se sugirió que la cantidad requerida para reproduc- - ción y lactación es de 12 μ g/rata/día. En la literatura se encuentran frecuentemen- - te dietas con valores entre 2 y 22 mg/kg de dieta.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de vitamina B₆ se caracteriza por un pe- - so bajo del animal, anorexia y reducción en el desarrollo y comportamiento sexual. - El crecimiento de las crías se retrasa y la sobrevivencia después del destete es im- - probable. Una dermatitis escamosa se observa en áreas periféricas de la cola, patas - hocico, nariz y orejas; los cuales eventualmente se vuelven rojas y edematosas.

La vitamina es necesaria para la eritropoyesis y una deficiencia causa una mi---

crocitosis de los eritrocitos y anemia. Se observan ataques convulsivos en las ratas jóvenes lactantes. Hay poca grasa en los tejidos, debido a un metabolismo anormal de la grasa. El macho se vuelve estéril, indicando que el requerimiento es mayor para él. Una deficiencia crónica incrementa la presión sanguínea y produce hematuria. Se ha reportado también formación de piedras de oxalato de calcio en el riñón. Asimismo, provoca un insuficiente crecimiento hormonal y una deficiencia de insulina.

Vitamina B₁₂.

El requerimiento para crecimiento y reproducción lo reportó Jaffé en 1956 como 0.5 µg/100 g de dieta. El requerimiento puede afectarse marcadamente por los componentes de la dieta (por la proteína y la grasa). En dietas purificadas se encuentran valores entre 10 y 36 µg/kg de dieta.

Síntomas de deficiencia. La deficiencia de vitamina B₁₂ induce en ratas jóvenes y adultas a una depleción por un tiempo prolongado. Es más fácil inducir la deficiencia alimentando a la hembra con una dieta deficiente al principio de la gestación. Los animales deficientes se pueden observar después del nacimiento o por la 2a. generación. La deficiencia de vitamina B₁₂ reduce el crecimiento y su nivel en hígado y en riñón (33). No hay reducción del hematocrito, hemoglobina y cuenta de células blancas y rojas en la sangre. Las crías al nacer resultan más débiles y pequeñas de lo normal, el número en la camada se reduce y la mortalidad es alta.

Agua.

Se ha demostrado que el alimento y el agua son interdependientes; con ella, "ad libitum" generalmente se conocen los requerimientos. La restricción de uno, produce la restricción del otro. La rata consume alimento y agua en una proporción de 1:1.9 respectivamente (50).

Durante la lactación máxima la ingesta de agua puede incrementarse 4 veces (11).

Un buen estado fisiológico de los animales, ayuda a que las hembras queden fértiles con mayor seguridad; y dependiendo de los cuidados que el investigador les tenga durante la gestación, las crías resultarán buenas o malas; influyendo también de manera directa, la finalidad del experimento.

El tiempo de gestación de la rata es de 22 o 23 días, al cabo del cual, nacen las crías. Durante este período, las ratas consumen 20 g de alimento al día. La ingesta decrece después de 21 días de gestación y disminuye nuevamente el día del nacimiento de las crías. En la lactancia, la ingesta de alimento aumenta un promedio de 12.2±3.1 g/rata, lo que implica entonces, un consumo de entre 30 y 35 g de ali-

mento al día.

Alimento de los Animales.

Existe una clasificación del alimento o dietas según el grado de refinamiento de los ingredientes y la composición cualitativa de éstos.

a) Dietas de ingredientes naturales.

Estas dietas se elaboran con granos enteros procesados (trigo, maíz o avena) y con materias primas sujetas a cierta refinación como harina de pescado, soya o salvado de trigo. Se les llama también dietas de cereales, dietas no refinadas o dietas no purificadas.

b) Dietas purificadas.

Se formulan sólo con ingredientes refinados. Las dietas contienen: caseína o proteína aislada de soya, almidón o azúcar, aceites vegetales, grasas animales y aceites esenciales, sales inorgánicas y vitaminas purificadas, y celulosa. Se les conoce también como dietas semipurificadas, dietas sintéticas o dietas semisintéticas.

c) Dietas químicamente definidas.

Son las elaboradas enteramente con compuestos químicos puros. Los ingredientes son: aminoácidos, azúcares, triglicéridos, ácidos grasos esenciales, sales inorgánicas y vitaminas. Estas dietas son útiles en estudios donde se requiere un control estricto de la concentración de nutrimentos específicos. La desventaja que presentan estas dietas es que los ingredientes tienen elevados costos y se requiere de gran experiencia para formularlas.

d) Dietas de fórmulas cerradas.

Son dietas manufacturadas y comercializadas por instituciones, quienes consideran información confidencial la composición de la dieta. Solo existe un análisis aproximado de la fórmula.

e) Dietas de fórmula abierta.

Son dietas que se basan en formulaciones de ingredientes cuantitativos e inmediatamente aprovechables.

Consideraciones que se toman en cuenta para la selección de dietas.

1.- La clase y composición de las dietas utilizadas en producción y experimentación animal, está en función del mantenimiento del buen estado de salud; de manera que se obtengan los resultados más consistentes posibles.

2.- Las dietas con ingredientes naturales son provechosas por ser económicas en su manufactura y presentan una buena palatabilidad y aceptabilidad. Por ello, son las más utilizadas en alimentación de animales de laboratorio.

Desventajas: - Presentan una variabilidad en la composición de los ingredientes y por consiguiente, en la concentración de los nutrimentos.

- Existe dificultad para hacer cambios en la concentración de un nutrimento en particular debido a que cada materia prima natural debe contener algún porcentaje de todos los nutrimentos requeridos.

- Posible presencia de concentraciones residuales de pesticidas, metales y otros agentes.

3.- Las dietas purificadas son mas caras porque los costos de las materias primas son muy altos y su aceptación por ciertas colonias de ratas de laboratorio no es muy buena. Nunca se han utilizado por espacio de tiempo prolongado ni se conoce se efecto sobre el comportamiento reproductivo de los animales. Por otra parte, la omisión de un componente resulta crítico ya que dicho componente, puede o es la única fuente de un nutrimento determinado.

4.- Las dietas de fórmula abierta son excelentes para la evaluación e interpretación de resultados. Además, la composición de los ingredientes puede modificarse para alterar la concentración de un nutrimento (35).

Formulación de Dietas.

La formulación de las dietas es el proceso mediante el cual, se determinan las proporciones, cantidades y/o niveles de los componentes de la dieta, para que ésta, tenga una concentración adecuada de cada nutrimento.

Básicamente, la formulación de las dietas está en función de la finalidad o del objetivo que se desee alcanzar en el experimento.

Para la formulación de las dietas se deben de tomar en consideración 3 aspectos:

a) Establecer la concentración de nutrimentos requerida para la dieta. Se deben de considerar las pérdidas de nutrimentos que puedan presentarse durante el proceso de manufactura y almacenamiento (esterilización, temperatura y humedad).

b) Seleccionar los ingredientes que se utilizarán en base a la composición nutricional; sin embargo, esto se ve afectado por su disposición en el mercado, la palatabilidad y los contaminantes químicos o biológicos. Se debe procurar que exista más de un componente como fuente primaria de un nutrimento.

c) Determinar la cantidad y proporción de cada uno de los constituyentes seleccionados requeridos para la producción de la dieta. La cantidad de cada nutrimento se expresa en porciento en peso (35).

Forma de las dietas.

Generalmente, las dietas se pueden suministrar a los animales en dos formas: ex-

trufidos o polvos. La selección se hace en base a los requerimientos de la investigación.

Las dietas en forma de harinas o polvos son las más ineficientes ya que se desperdician mucho a menos que se usen comederos especiales. Son muy susceptibles a contaminación, la capacidad de los comederos que se utilizan para su administración es inadecuada, de difícil limpieza y quizá conserven residuos peligrosos que no se remuevan fácilmente.

Las dietas en forma de extrufidos son las más utilizadas ya que son fáciles de almacenar, manejar y proporcionar al animal. Este tipo de dietas generalmente son comerciales (18).

Actualmente se pueden incorporar agentes de prueba a estas dietas, ya que se cuenta con un equipo, con el cual se pueden volver a repetitizar las dietas, esto es, formar nuevamente un extrufido (15).

PARTE EXPERIMENTAL

Material y Métodos.

Los métodos que se siguieron para el desarrollo de este trabajo se dividieron en químicos y biológicos.

- a) Métodos químicos:
- 1.- Análisis Químico Proximal
 - 2.- Prueba de Eber's para putrefacción
 - 3.- Determinación de minerales (Ca, Fe, K, Na, P y Zn)

Los métodos citados anteriormente se realizaron tanto en las materias primas como en las dietas elaboradas, a excepción de la prueba de putrefacción, que sólo se efectuó a la harina de pescado.

- b) Métodos biológicos:
- 1.- Curvas de Crecimiento
 - 2.- Digestibilidad "in vivo"
 - 3.- Reproducción

Métodos Químicos.

1.- Análisis Químico Proximal.

Las determinaciones de Humedad, Cenizas, Proteína Cruda, Grasa Cruda, Fibra Cruda y Carbohidratos, se hicieron de acuerdo a las técnicas oficiales del A. O. A. C. (28). En la determinación de proteína cruda que se hizo por el método micro-Kjeldahl, se hicieron algunas modificaciones que se describen a continuación:

Determinación de Proteína Cruda (Método Micro-Kjeldahl)

- Material

Aparato Micro-Kjeldahl (Digestor y Destilador)

Balanza analítica

Bureta

Matraces Erlenmeyer de 125 ml

Matraces Kjeldahl de 35 ml

- Reactivos

Mezcla digestiva

Solución de H_3BO_3 al 0.5% (con indicadores)

Solución de HCl 0.02 N

Solución de NaOH al 60%

Mezcla reactiva de selenio

- Preparación de reactivos

Mezcla digestiva. A 300 ml de ácido sulfúrico se le adicionan 100 ml de ácido orto-fosfórico y 3.0 g de sulfato cúprico, se mezclan completamente hasta total di-

solución.

Solución de ácido bórico al 0.5%. 10 g de ácido bórico se disuelven en agua destilada en un matraz de 2 litros, se agregan 70 ml del indicador (a) y 20 ml del indicador (b), se agrega más agua hasta cerca del aforo, se ajusta el color a un café rojizo con unas gotas de hidróxido de sodio 0.5 N y se afora con agua destilada a - 2000 ml.

Indicador (a). Solución de fenolftaleína al 0.1% en alcohol etílico.

Indicador (b). 33 mg de verde bromocresol y 66 mg de rojo de metilo se disuelven y se aforan a 100 ml con etanol al 95%.

- Fundamento

El método consta de dos fases: 1) Digestión, en la cual se lleva a cabo la destrucción de la materia orgánica mediante una oxidación con ácido sulfúrico y el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio; 2) Destilación, esta sal se hace reaccionar con una base fuerte desprendiéndose amoníaco - que se destila y se recibe en una solución de ácido bórico, formando el borato de amonio que se titula con la solución de ácido clorhídrico 0.02 N.

Con los datos anteriores se obtiene el porcentaje de nitrógeno que multiplicado por el factor 6.25 nos da directamente el porcentaje de proteína cruda.

- Procedimiento

Digestión. Se pesan de 50 a 100 mg de muestra y se colocan en un matraz - - - Kjeldahl de 35 ml. Se le ponen 3 perlas de vidrio, 100 mg de mezcla reactiva de selenio y 3 ml de mezcla digestiva. La digestión se hace durante 30-40 minutos (hasta que el líquido quede claro). Se deja enfriar el matraz.

Destilación. Calentar el agua del microdestilador hasta ebullición. Colocar la muestra lavando varias veces (3-4) con pequeñas porciones de agua hasta un volumen total aproximado de 30 ml. Abrir el tubo que comunica el baño con el exterior cuando se agrega la muestra, hidróxido de sodio o agua para igualar presiones. Después de colocar la muestra con los 30 ml de agua, se ponen 10 ml de hidróxido de sodio - al 60% y se bajan poco a poco para evitar que la reacción sea muy fuerte. Se recibe el destilado en un matraz Erlenmeyer de 125 ml que contiene 30 ml de ácido bórico - con indicadores, evitar posible sifoneo y se destila 10 minutos a partir de que se destila la primer gota. Posteriormente, se titula el contenido del matraz con ácido clorhídrico 0.02 N.

Al mismo tiempo de la determinación se hace un blanco de reactivos con el papel glacián, usado para pesar la muestra.

- Cálculos

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(A-B) N_{\text{HCl}} \times \text{meq. } N_2 \times 100}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

donde: A = ml de HCl utilizados para titular la muestra

B = ml de HCl utilizados para titular el blanco

meq. = miliequivalente del nitrógeno

N = normalidad del HCl

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

2.- Prueba de Eber's para putrefacción.

Es un análisis cualitativo por medio del cual, se detecta si un alimento está en estado de descomposición. Esta prueba se lleva a cabo en carnes y pescados.

- Material

Matraz Erlenmeyer de 250 ml

Tapón de hule

Papel filtro

- Reactivos

Solución de H_2SO_4 al 10%

Solución saturada de sub-acetato de plomo

- Fundamento

Es una reacción ácida con la cual se conoce el grado de putrefacción que tiene la muestra, debido a la formación de sulfato de plomo.

- Procedimiento

En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se ponen 5 g de muestra (pescado o carne). - Se prepara un tapón con papel filtro y el papel filtro se humedece con la solución saturada de sub-acetato de plomo. Se agrega el ácido sulfúrico dentro del matraz, - se agita y se coloca el tapón. Se deja reposar durante 30 minutos. La prueba resulta positiva si el papel filtro adquiere una coloración negra, indicando entonces - que hubo formación de sulfato de plomo.

3.- Determinación de Hiearales.

Determinación de Ca, Fe, K, Na, P y Zn.

- Material

Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin-Elmer 5000

Matraces volumétricos

Pipetas volumétricas

- Procedimiento

Condiciones de trabajo usadas en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

	Ca	Fe	Zn	K	Na
Longitud de onda	423.0	248.3	213.8	166.6	589.0
Corriente mínima	10 mA	30 mA	15 mA	12 mA	8 mA
Slit	0.7	0.2	0.7	1.4	0.4
Energía alcanzada	68	53-55	56-57	69-70	67-68
Matriz	Oxido de Lantano	Agua Desionizada		NaCl	KCl
	0.1%				
Flama	Aire	30	30	30	30
	Acetileno	20	20	20	20

- Preparación del material.

El material que se utiliza en estas determinaciones se somete a un lavado previo con HNO_3 al 10%, enjuagándolo con agua desionizada.

- Preparación de la muestra.

Se pesan de 4 a 5 g de muestra en crisoles de porcelana y se procede a la obtención de cenizas siguiendo el método oficial del A. O. A. C. (28).

A las cenizas obtenidas, se les agrega de 2 a 3 gotas de HNO_3 concentrado hasta lograr su total disolución. Posteriormente se transfieren a un matraz aforado de 100 ml y se aforan con agua desionizada, se filtran y la solución obtenida servirá para la determinación de minerales.

Determinación de Calcio.

- Reactivos

a) Solución de óxido de lantano al 0.1%. Se pesa 1 g de óxido de lantano, se agrega HCl concentrado gota a gota hasta disolver y se lleva a un litro con agua desionizada.

b) Solución stock de Calcio (Conc. = 1000 $\mu\text{g/ml}$). Disolver - - - 1.249 g de CaCO_3 y agregar 50 ml de agua desionizada. Agregar gota a gota HCl (aproximadamente 10 ml). Diluir a un litro con agua desionizada.

c) Solución estándar de Calcio (Conc. = 100 $\mu\text{g/ml}$). Tomar 10 ml de la solución stock y llevarlos a 100 ml con agua desionizada.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 2 y 4 ml de la solución estándar a matraces volumétricos de 100 ml y diluir con óxido de lantano hasta el volumen (Conc. = 2 $\mu\text{g/ml}$ y 4 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente). Transferir una alícuota de 10 ml de la solución estándar a un matraz volumétrico de 200 ml y diluir con óxido de lantano hasta el volumen (Conc. = 5 $\mu\text{g/ml}$). Leer en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

- Cálculos

$$\text{mg de Ca/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (f.d.)}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos en la lectura

$$f.d. = \frac{\text{aforo con óxido de lantano}}{\text{alícuota}}$$

Determinación de Cinc.

- Reactivos

a) Solución stock de Cinc (Conc. = 1000 µg/ml). Disolver 1.0 g de metal de cinc en un volumen mínimo de HCl (1:1) y diluir a un litro con HCl 1% (v/v).

b) Solución estándar de Cinc (Conc. = 10 µg/ml). Tomar un ml de la solución stock y llevarlo a 100 ml con agua desionizada.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 15 y 25 ml de la solución estándar a matraces volumétricos de 500 ml y diluir con agua desionizada hasta el volumen (Conc. = 0.3 µg/ml y 0.5 µg/ml respectivamente). Transferir una alícuota de 25 ml de la solución estándar a un matraz volumétrico de 250 ml y diluir con agua desionizada hasta el volumen (Conc. = 1.0 µg/ml). Leer en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

- Cálculos

$$\text{mg de Zn/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (f.d.)}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos en la lectura

$$f.d. = \frac{\text{aforo}}{\text{alícuota}}$$

Determinación de Hierro.

- Reactivos

a) Solución stock de Hierro (Conc. = 1000 µg/ml). Disolver 1.0 g de alambre de hierro en 500 ml de HNO₃ (1:1). Diluir a un litro con agua desionizada.

b) Solución estándar de Hierro (Conc. = 100 µg/ml). Tomar 10 ml de la solución stock y llevarlos a 100 ml con agua desionizada.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 25, 15 y 5 ml de la solución estándar a matraces volumétricos de 500 ml y diluir con agua desionizada hasta el volumen (Conc. = 5 µg/ml, 3 µg/ml y 1 µg/ml respectivamente). Leer en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

ca.

- Cálculos

$$\text{mg de Fe/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (f.d.)}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos en la lectura

$$f.d. = \frac{\text{aforo}}{\text{alícuota}}$$

Determinación de Potasio.

- Reactivos

a) Solución stock de Potasio (Conc. = 1000 $\mu\text{g/ml}$). Dissolver - - 1.907 g de KCl en un litro de agua desionizada.

b) Solución de NaCl al 0.15%.

c) Solución estándar de Potasio (Conc. = 100 $\mu\text{g/ml}$). Tomar 10 ml de la solución stock y llevarlos a 100 ml con la solución de NaCl al 0.15%.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 5, 3 y 1 ml de la solución estándar a matraces volumétricos de 250 ml y diluir con cloruro de sodio al 0.15% hasta el volumen (Conc. = - 2 $\mu\text{g/ml}$, 1.2 $\mu\text{g/ml}$ y 0.4 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente). Leer en el Espectrofotómetro de Ab sorción Atómica.

- Cálculos

$$\text{mg de P/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (f.d.)}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos en la lectura

$$f.d. = \frac{\text{aforo con NaCl}}{\text{alícuota}}$$

Determinación de Sodio.

- Reactivos

a) Solución stock de Sodio (Conc. = 1000 $\mu\text{g/ml}$). Dissolver - - - 2.542 g de NaCl en un litro de agua desionizada.

b) Solución de KCl al 0.15%.

c) Solución estándar de Sodio (Conc. = 100 $\mu\text{g/ml}$). Tomar 10 ml - de la solución stock y llevarlos a 100 ml con la solución de KCl al 0.15%.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 5, 4, 3 y 1 ml de la solución estándar a matraces volu métricos de 500 ml y diluir con cloruro de potasio al 0.15% hasta el volumen (Conc. 1 $\mu\text{g/ml}$, 0.8 $\mu\text{g/ml}$, 0.6 $\mu\text{g/ml}$ y 0.2 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente). Leer en Espectrofotóme-

tro de Absorción Atómica.

- Cálculos

$$\text{mg de Na/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (f.d.)}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos en la lectura

$$f.d. = \frac{\text{aforo con KCl}}{\text{alícuota}}$$

Determinación de Fósforo.

Método fotométrico.

- Material

Espectrofotómetro Beckman DU-7

Celdas de cuarzo de 1 cm

Matraces volumétricos de 50 y 100 ml

Pipetas volumétricas

- Reactivos

a) Molibdo vanadato de amonio. Disolver 40.0 g de molibdato de amonio en 400 ml de agua caliente y dejar enfriar. Disolver 2.0 g de metavanadato de amonio en 250 ml de agua caliente, dejar enfriar y añadir 250 ml de HClO₄ al 70%. Gradualmente se añade la solución de molibdato de amonio a la solución de metavanadato de amonio, agitando continuamente. Diluir a 2 litros.

b) Solución stock de Fósforo (Conc. = 2 mg/ml). Disolver 8.788 g de KH₂PO₄ en agua y llevarlo a un litro.

c) Solución estándar de Fósforo (Conc. = 0.1 mg/ml). Tomar 50 ml de la solución stock y llevarlos a un litro.

- Preparación de la Curva Estándar.

Transferir alícuotas de 5, 10, 15, 20 y 25 ml de la solución estándar a matraces volumétricos de 50 ml, agregar 20 ml del reactivo de molibdo vanadato de amonio, diluir hasta el volumen con agua desionizada, mezclar bien y dejar reposar durante 10 minutos (Conc. = 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml y 50 µg/ml respectivamente). Preparar un blanco de reactivos y leer el % de absorbancia a una longitud de onda de 400 nm.

Para determinar el fósforo en las muestras, se toman volúmenes conocidos de las soluciones que se han utilizado en las determinaciones anteriores de minerales y se preparan como la curva estándar.

Determinar los microgramos de fósforo de las muestras, al graficar en papel logarítmico, los microgramos de fósforo de la curva estándar contra el % de absorban---cia.

- Cálculos

$$\text{mg de P/100 g} = \frac{(A) (100) (100) (\text{f.d.})}{[\text{Peso de la muestra (g)}] (1000)}$$

donde: A = microgramos obtenidos al extrapolar la curva.

$$\text{f.d.} = \frac{\text{aforo}}{\text{alfcuota}}$$

Métodos Biológicos.

Las dietas estudiadas se elaboraron en base al análisis químico proximal descrito en la garantía del alimento comercial Chow Purina, tomando en consideración que éste cubra el requerimiento nutricional para ratas y que se da a continuación:

Dieta Base.

Proteína	21.0-22.0%
Carbohidratos	45.5%
Grasa	4.5%
Minerales	9.0%
Vitaminas	2.0%
Celulosa	csp 100.0%

El aporte calórico de esta dieta es de 306.5 Cal./100 g.

Las materias primas empleadas para la elaboración de 9 de las 11 dietas fueron:

- Como aporte de proteínas:

- Harina de Pescado (ALBAMEX, S. A. de C. V., México)
- Pasta de Soya (ALBAMEX, S. A. de C. V., México)
- Garbanzo crudo (Casa Comercial, México, D. F.)
- Caseinato de Calcio (Mead Johnson, S. A. de C. V., México)
- Leche en polvo (Nestlé, S. A. de C. V., México)
- Urea (Merck, S. A. de C. V., México)
- Metionina (ALBAMEX, S. A. de C. V., México)

- Como aporte de carbohidratos:

- Dextrina (Aranal, S. A. de C. V., México)
- Sacarosa (Casa Comercial, México, D. F.)

- Como aporte de grasa:

- Aceite de Mafz (Casa Comercial, México, D. F.)

- Como aporte de vitaminas:

- Premezcla de vitaminas (Tecklad Test Diets, Madison, WIS.)
- Harina de Alfalfa deshidratada
- Harina de Zanahoria deshidratada

- Como aporte de minerales:
 Premezcla de minerales (Roger and Harper)
 Harina de Alfalfa deshidratada
 Harina de Zanahoria Deshidratada
- Como aporte de fibra:
 Celulosa (Tecklad Test Diets, Madison, WIS.)

Obtención de las harinas de alfalfa y zanahoria deshidratadas.- La zanahoria se ralló y la alfalfa se cortó en pedazos pequeños para facilitar la pérdida de humedad. Posteriormente, se colocaron y extendieron sobre papel, de tal forma que estuvieran expuestas a la luz del sol, hasta que se secaron totalmente.

La zanahoria, la alfalfa, la harina de pescado, la pasta de soya y el garbanzo, se molieron para tener un tamaño de partículas homogéneo. Esta molienda se realizó en un molino Arthur Thomas Co. (Philadelphia, PA.), haciéndola pasar a través de una malla del número 20.

Con los resultados de los análisis químicos aplicados a las materias primas, se procedió a formular las dietas estudiadas, las cuales fueron:

- 1.- Garbanzo
- 2.- Garbanzo-Urea
- 3.- Garbanzo-0.6% de Metionina
- 4.- Harina de Pescado-Garbanzo
- 5.- Harina de Pescado-Soya
- 6.- Soya
- 7.- Soya-Urea
- 8.- Soya-0.6% de Metionina
- 9.- Leche-Caseinato de Calcio

Cabe señalar que la mayoría de las dietas se formularon con un aporte de proteínas del 21% a excepción de las dietas de Garbanzo y Garbanzo-0.6% de Metionina, las cuales se formularon con un aporte proteínico de 16%. Esto se debió a que la cantidad de proteína que tuvo el garbanzo fue menor del 21%, que fue el obtenido del análisis químico proximal de la dieta comercial la cual se tomó como base para la formulación de las otras dietas.

Las dietas restantes fueron 2 alimentos comerciales para ratas de laboratorio: uno nacional (Nutricubo) y el otro importado (Chow Purina).

En todas las dietas a excepción de la dieta control (Leche-Caseinato de Calcio) y las comerciales, se suplió el aporte de vitaminas y minerales por un 5% de harina de alfalfa deshidratada y un 5% de harina de zanahoria deshidratada.

En la tabla # 5 se muestra la composición en g/100 g de dieta de cada una de las dietas elaboradas.

Procedimiento.

Para los estudios biológicos (Curva de Crecimiento, Digestibilidad "in vivo" y Reproducción) se utilizaron 132 ratas (66 machos y 66 hembras) de la cepa Fisher - 344, recién destetadas (21 días de edad) proporcionadas por el Bioterio de la Jefatura de Control de Calidad del I. M. S. S., dentro del cual se llevaron a cabo las pruebas biológicas.

Los animales se dividieron en grupos de 12 y cada grupo fue formado por igual número de ratas macho y ratas hembra a los que se les proporcionó una dieta específica.

Los animales se distribuyeron al azar, de tal forma que el promedio de peso de cada grupo no fuera mayor de ± 1.0 g. Se colocaron individualmente en cajas metálicas y se les proporcionó agua y alimento "ad libitum". Asimismo, se mantuvieron en condiciones controladas como: ciclo de luz-oscuridad de 12 hrs. cada uno, temperatura de 21°C y humedad ambiental de 45 a 50% durante todo el experimento.

El estudio tuvo una duración de 56 días con el fin de que al término de este período, los animales estuvieran en edad reproductiva. Durante este tiempo, se llevó un control de la ganancia de peso y del consumo de alimento. Estos datos se obtuvieron 2 veces por semana.

Para determinar la digestibilidad "in vivo", se recolectaron las heces de los animales de la penúltima semana de estudio. Se dejaron secar éstas durante una semana, se pesaron y posteriormente se molieron para homogenizarlas. Con estas muestras se realizó la determinación de N_2 fecal siguiendo el método Micro-Kjeldahl.

- Cálculos

$$\text{Digestibilidad} = \frac{N \text{ ingerido} - N \text{ fecal}}{N \text{ ingerido}} \times 100$$

Una vez alcanzada la edad de reproducción de los animales (77 días) se cruzaron, colocando un macho y una hembra de la misma dieta en una jaula más amplia y con una cama de aserrín, proporcionándoles de igual forma, agua y alimento "ad libitum". Se dejaron los animales juntos durante una semana para luego separar a los machos y ver cuáles hembras resultaron embarazadas, esperando el período de gestación cuya duración es de 21 días.

Después del nacimiento, se contaron las crías de la camada de cada hembra.

Cabe mencionar que durante el estudio de reproducción, los animales se alimentaron con las dietas iniciales hasta el día en que concluyó el experimento.

TABLA # 5
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTADAS g/100 g

INGREDIENTES	D I E T A S									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1.- Harina de Pescado	-	-	-	17.5	16.3	-	-	-	-	
2.- Pasta de Soya	-	-	-	-	24.0	48.0	33.6	48.0	-	
3.- Garbanzo	78.9	77.3	78.9	55.3	-	-	-	-	-	
4.- Caseinato de Calcio	-	-	-	-	-	-	-	-	11.9	
5.- Leche en polvo	-	-	-	-	-	-	-	-	29.9	
6.- Urea	-	2.2	-	-	-	-	2.2	-	-	
7.- Metionina	-	-	0.6	-	-	-	-	0.6	-	
8.- Dextrina	-	-	-	5.1	17.8	14.1	16.7	14.1	14.0	
9.- Sacarosa	-	-	-	5.1	17.8	14.2	16.7	14.2	14.1	
10.- Aceite	-	-	-	-	2.9	3.5	3.8	3.5	3.9	
11.- Premezcla de Vitaminas	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	
12.- Premezcla de Minerales	-	-	-	-	-	-	-	-	7.3	
13.- Harina de Alfalfa	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	-	
14.- Harina de Zanahoria	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	-	
15.- Celulosa	11.1	10.5	10.5	7.0	11.1	10.2	17.0	9.6	16.8	

En la tabla # 6 se muestra el análisis químico proximal de las materias primas utilizadas en la elaboración de las dietas experimentales.

Como se esperaba, el valor más alto en contenido de proteína lo obtuvo la harina de pescado. Así también, su contenido de grasa fue el mayor en comparación con las otras materias primas.

En el contenido de cenizas, la harina de pescado es la que tuvo el valor más elevado, siguiendo después la alfalfa y la zanahoria cuyos valores, en base seca como se utilizaron, son significativos, ya que se emplearon como fuente de vitaminas y de minerales en la elaboración de las dietas.

En cuanto al contenido de carbohidratos, se apreció que el garbanzo es el que tuvo el valor más alto y por tanto es una buena fuente de energía.

Los valores altos que presentó la harina de pescado en sus contenidos de proteína, grasa y cenizas, se pueden deber a que esta harina está constituida no sólo por pulpa y huesos de pescado, sino también por otras especies marinas a las que se les denomina fauna de acompañamiento.

La prueba de putrefacción realizada a la harina de pescado resultó negativa ya que no hubo formación de sulfato de plomo y por tanto, la materia prima no se encuentra en estado de descomposición, por lo que se procedió a emplearla en la elaboración de dietas.

El análisis químico proximal de las dietas elaboradas se encuentra en la tabla # 7.

En lo que al contenido de proteína se refiere, en base húmeda se observó que todas las dietas tuvieron valores alrededor del rango establecido (21-22%) en la dieta base, las que están ligeramente arriba del 22% se podría deber a que para el cálculo de proteína no se tomó en cuenta la cantidad que podrían proporcionar la alfalfa y la zanahoria que contenían las dietas.

Con respecto al contenido de grasa, se observó en la mayoría de las dietas, valores un poco superiores al estipulado en la garantía de la dieta base (4.5%), aunque la diferencia no es significativa, excepto en, las dietas de garbanzo y garbanzo-0.6% de metionina. Se ha visto que muestras de garbanzo poseen un contenido de grasa hasta del 8%. Por tanto, se cree que el incremento en las dietas elaboradas sea por esta razón, dado que se utilizó garbanzo de diferentes casas comerciales.

Ahora bien, los valores de las dietas comerciales difieren también con el estipulado por la garantía de la dieta base (4.5%), pero hay que tomar en cuenta que el -

TABLA # 6

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LAS MATERIAS PRIMAS
g/100 g

	H. de Pescado		Soya		Garbanzo		H. de Alfalfa		H. de Zanahoria	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Humedad	7.4	-	5.3	-	5.5	-	87.4	-	91.4	-
Protefna	64.4	69.6	43.7	46.1	19.1	20.2	3.3	26.0	0.5	5.9
Grasa	7.3	7.9	2.1	2.2	5.8	6.1	0.5	4.0	0.1	1.1
Fibra	1.8	1.9	6.6	7.0	4.5	4.8	2.6	20.7	0.3	3.0
Cenizas	16.5	17.8	6.1	6.4	3.4	3.6	1.8	14.5	0.6	6.6
Carbohidratos	2.5	2.8	36.2	38.3	61.7	65.3	4.4	34.8	7.1	82.5

TABLA # 7
ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTADAS
g/100 g

	Garbanzo		Garbanzo-Urea		Garbanzo-0.6% Met.		Pescado-Garbanzo		Pescado-Soya	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Humedad	7.4	--	5.6	--	7.6	--	5.3	--	6.3	--
Protefna	16.2	17.5	21.7	23.0	17.5	18.9	22.9	24.2	22.5	24.0
Grasa	5.9	6.4	4.6	4.9	6.4	6.9	4.4	4.6	4.6	4.9
Fibra	10.2	11.0	12.3	13.0	9.3	10.1	12.0	12.7	11.0	11.7
Cenizas	3.3	3.6	4.4	4.7	3.1	3.3	7.1	7.5	4.6	4.9
Carbohidratos	57.0	61.5	51.4	54.4	56.1	60.8	48.3	51.0	51.0	54.5

	Soya		Soya-Urea		Soya-0.6% Met.		Leche-Caseinato de Ca (Control)		Nutricubo		Chow Purina	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Humedad	7.9	--	7.5	--	4.6	--	4.5	--	6.8	--	7.8	--
Protefna	22.2	24.1	23.1	25.0	21.8	22.8	20.9	21.9	22.8	24.5	22.8	24.7
Grasa	4.8	5.2	4.6	5.0	4.9	5.1	4.4	4.7	3.0	3.2	5.0	5.4
Fibra	12.1	13.1	12.7	13.7	15.7	16.5	10.7	11.2	7.1	7.6	6.0	6.6
Cenizas	3.4	3.7	3.0	3.2	4.0	4.2	9.0	9.4	8.1	8.7	7.7	8.4
Carbohidratos	49.6	53.9	49.1	53.1	49.0	52.4	50.5	52.8	52.2	56.0	50.7	54.9

chow purina utilizado en esta prueba, pertenecía a un lote diferente al que se analizó para la dieta base, y que el nutricubo, aunque también es de la casa comercial Purina, es de fabricación nacional y las materias primas para su elaboración son diferentes.

Con relación al contenido de cenizas, se pudo observar que en general, los datos de las dietas elaboradas no difieren entre sí. Sin embargo, se observó una gran diferencia con la dieta control (leche-caseinato de calcio) y las comerciales, ya que hay que tomar en cuenta que el aporte de minerales se estaba cubriendo con harina de alfalfa y harina de zanahoria (5% de cada una) y la cantidad añadida no fue lo suficiente. En el caso de la dieta pescado-garbanzo, se tuvo un valor más alto que los valores de las otras dietas elaboradas, ya que se le añadió más harina de pescado, la cual fue rica en minerales.

Los datos de las dietas comerciales y de la dieta control, fueron elevados ya que para la preparación de la dieta control (leche-caseinato de calcio), se adicionó una premezcla comercial de minerales.

El análisis de minerales realizado a las materias primas aparece en la tabla # 8. Los minerales determinados fueron: calcio, cinc, fósforo, hierro, potasio y sodio.

Al comparar los datos obtenidos con los que se presentan en la bibliografía (60) para Ca, Fe y P que se dan en la tabla # 9, en general no se encontraron diferencias significativas, excepto para la harina de alfalfa, en que su contenido de hierro es bajo. Con respecto a la harina de pescado, no se pudo hacer una comparación ya que como se había mencionado anteriormente, ésta no está constituida por una sola especie, sino que es la captura de varias especies.

En la tabla # 10 se muestra el análisis de minerales realizado en las dietas elaboradas. Los minerales determinados fueron: calcio, cinc, fósforo, hierro, potasio y sodio.

En general los valores obtenidos sobrepasan a los establecidos como requerimientos de cada mineral para la rata de laboratorio, los cuales se dan en la tabla # 3 de generalidades.

En el caso del calcio, las dietas de garbanzo, garbanzo-urea, garbanzo-0.6% de metionina, soya, soya-urea y soya-0.6% de metionina tuvieron valores menores a los requeridos por la rata para un buen crecimiento y una buena gestación y lactación. En las dietas restantes, los valores son mayores respecto al establecido.

En cuanto a su contenido de cinc, todas las dietas resultaron con valores muy superiores al requerido para un crecimiento normal.

TABLA # 8
ANALISIS DE MINERALES DE LAS MATERIAS PRIMAS
mg/100 g

	Garbanzo		H. de Pescado		Soya		H. de Alfalfa		H. Zanahoria	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Calcio	107.0	113.2	3877.3	4191.7	297.4	314.0	183.2	1454.4	31.6	367.4
Cínc	4.0	4.2	11.8	12.8	5.2	5.5	0.5	3.8	0.2	2.0
Fosforo	366.4	387.7	895.7	968.3	744.6	786.3	39.3	312.2	26.3	305.6
Hierro	6.7	7.1	37.2	40.2	11.2	11.8	2.2	17.4	0.5	5.6
Potasio	1022.7	1082.2	1248.4	1349.6	1755.5	1874.9	490.8	3895.6	211.2	2456.2
Sodio	16.9	17.9	577.6	624.4	81.6	86.2	17.5	139.1	31.0	361.1

TABLA # 9
CONTENIDO DE MINERALES DE LAS MATERIAS PRIMAS
ENCONTRADOS EN LA LITERATURA (60)
mg/100 g

	Garbanzo	Soya	H. de Alfalfa	H. de Zanahoria
Calcio	100.0	226.0	66.7	279.0
Fósforo	345.0	616.0	283.3	203.0
Hierro	7.0	8.6	30.0	7.4

TABLA # 10
ANALISIS DE MINERALES DE LAS DIETAS EXPERIMENTADAS
mg/100 g

	Garbanzo		Garbanzo-Urea		Garbanzo-0.6% Met.		Pescado-Garbanzo		Pescado-Soya	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Calcio	183.3	197.9	318.4	337.3	188.8	204.3	1099.2	1160.7	855.9	913.4
Cinc	3.4	3.7	2.5	2.6	3.5	3.8	4.9	5.2	3.4	3.6
Fósforo	390.9	422.1	425.8	451.0	623.2	674.4	572.7	604.7	746.3	796.5
Hierro	5.9	6.4	3.9	4.1	5.9	6.4	12.9	13.6	12.2	13.0
Potasio	1042.0	1125.3	1149.4	1217.6	997.7	1079.8	817.5	863.2	951.9	1015.9
Sodio	34.4	37.1	101.1	107.0	37.0	40.0	379.9	401.2	127.2	135.7

	Soya		Soya-Urea		Soya-0.6% Met.		Leche-Caseinato de Ca (Control)		Nutricubo		Chow Purina	
	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs	bh	bs
Calcio	284.1	308.5	239.0	254.8	321.2	336.7	1411.9	1478.4	1218.1	1307.0	2110.3	2288.8
Cinc	3.5	3.8	2.6	2.8	3.1	3.2	2.5	2.7	9.6	10.3	8.2	8.9
Fósforo	806.3	875.5	483.4	522.6	450.9	472.6	678.6	710.6	282.7	303.3	190.8	206.9
Hierro	17.7	19.2	8.1	8.7	8.4	8.8	5.4	5.6	18.9	20.3	22.4	24.3
Potasio	1246.1	1353.3	1068.5	1155.1	1648.2	1727.7	1153.7	1208.1	1306.9	1402.2	1095.8	1188.5
Sodio	45.5	50.5	40.2	43.5	33.4	35.0	836.3	875.7	349.9	375.4	332.9	361.1

En relación a su contenido de fósforo, las dietas presentaron concentraciones dentro del rango establecido para un desarrollo normal del animal e inclusive algunas tienen niveles más altos al estipulado. Las dietas que resultaron con una concentración menor a la requerida fueron las comerciales (nutricubo y chow purina).

Con respecto a su contenido de hierro y potasio, las dietas resultaron con valores elevados a los establecidos como referencia para un buen desarrollo de la rata.

En lo que al contenido de sodio se refiere, se observó que las dietas de garbanzo, garbanzo-0.6% de metionina y soya-0.6% de metionina, poseen una concentración menor a la establecida para que la rata tenga un buen crecimiento y desarrollo. Las dietas restantes tuvieron niveles de este mineral dentro del rango estipulado e incluso algunas con mayores al requerido.

Las curvas de crecimiento de las ratas macho y hembra se presentan en las gráficas Nos. 1, 2, 3 y 4.

En ellas se observa como fue el crecimiento de los animales alimentados con las diferentes dietas experimentales.

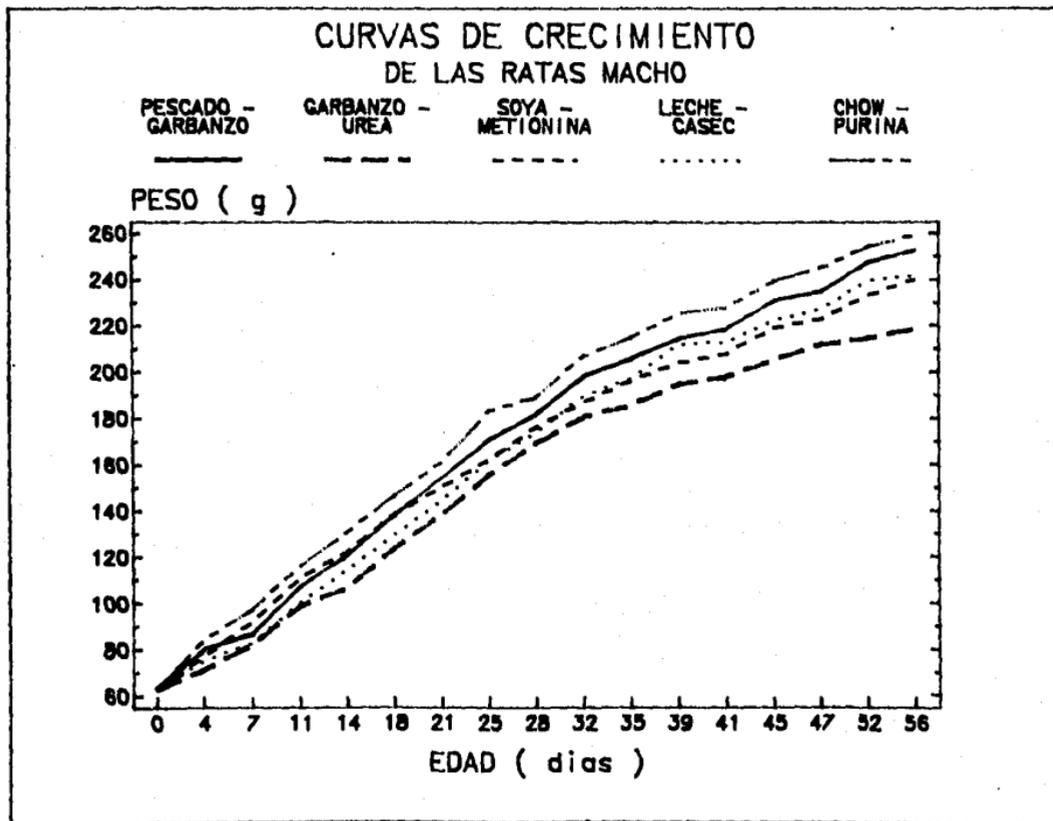
La dieta que proporcionó una mejor y mayor velocidad de crecimiento fue la dieta comercial chow purina, tanto para los machos como para las hembras, ya que así lo demuestran los pesos que se registraron hasta el día del apareamiento.

Por otra parte, en las mismas gráficas, se notó que fueron dietas diferentes las que dieron menor velocidad de crecimiento para hembras y para machos, así por ejemplo en machos las ratas que tuvieron menor crecimiento fueron las que consumieron la dieta de garbanzo-urea, mientras que en hembras fueron las que consumieron la dieta de soya-urea.

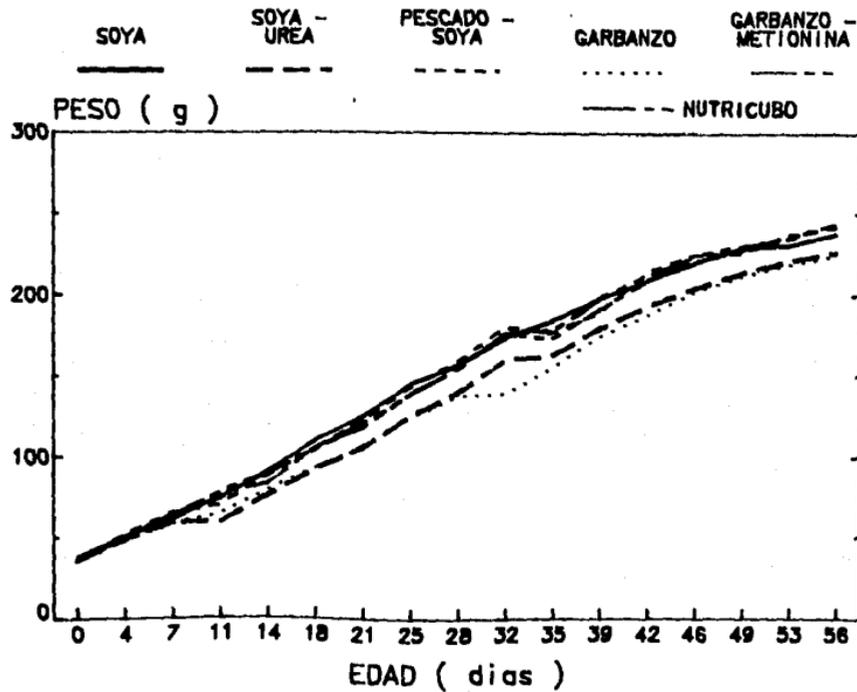
La dieta control (leche-caseinato de calcio), presentó una velocidad de crecimiento intermedia similar a la de nutricubo, garbanzo-0.6% de metionina y soya-0.6% de metionina tanto para los machos como para las hembras, esto se demuestra con los pesos finales obtenidos en estos grupos de animales y que se presentan en la gráfica # 5.

Al analizar las curvas de crecimiento de los machos se observa que los animales alimentados con las dietas de garbanzo y garbanzo-urea, fueron los que presentaron la velocidad de crecimiento más baja. Asimismo, los animales alimentados con las dietas de soya y soya-urea, obtuvieron una velocidad de crecimiento baja, aunque al compararlas con las 2 anteriores, son ligeramente mejores. Esto se debe básicamente a que el garbanzo y la soya por ser leguminosas, presentan deficiencia en el mismo aminoácido esencial (metionina) y por tanto, al no cubrirse el requerimiento de éste, el crecimiento es lento y pobre. En el caso de la dieta de garbanzo, la veloci-

GRAFICA No. 1



CURVAS DE CRECIMIENTO DE LAS RATAS MACHO



CURVAS DE CRECIMIENTO DE LAS RATAS HEMBRA

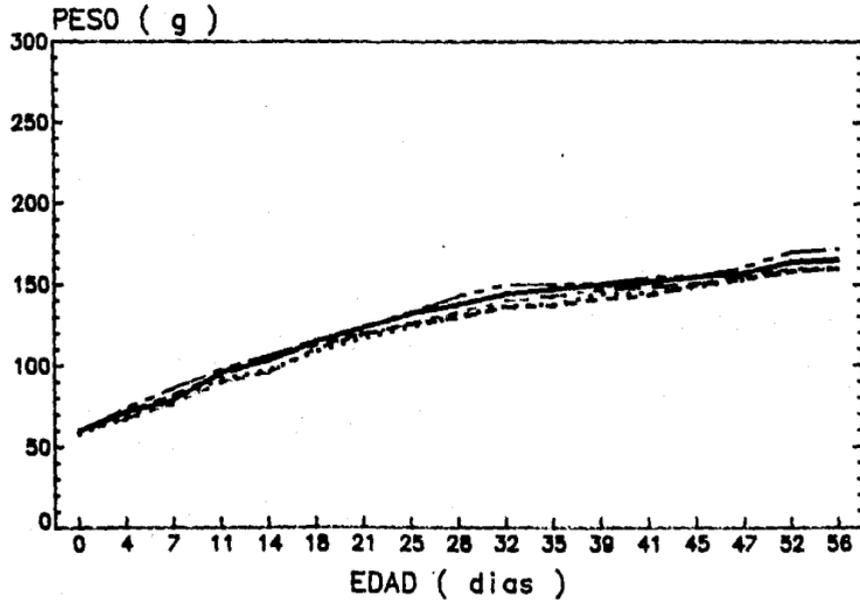
PESCADO -
GARBANZO

GARBANZO -
UREA

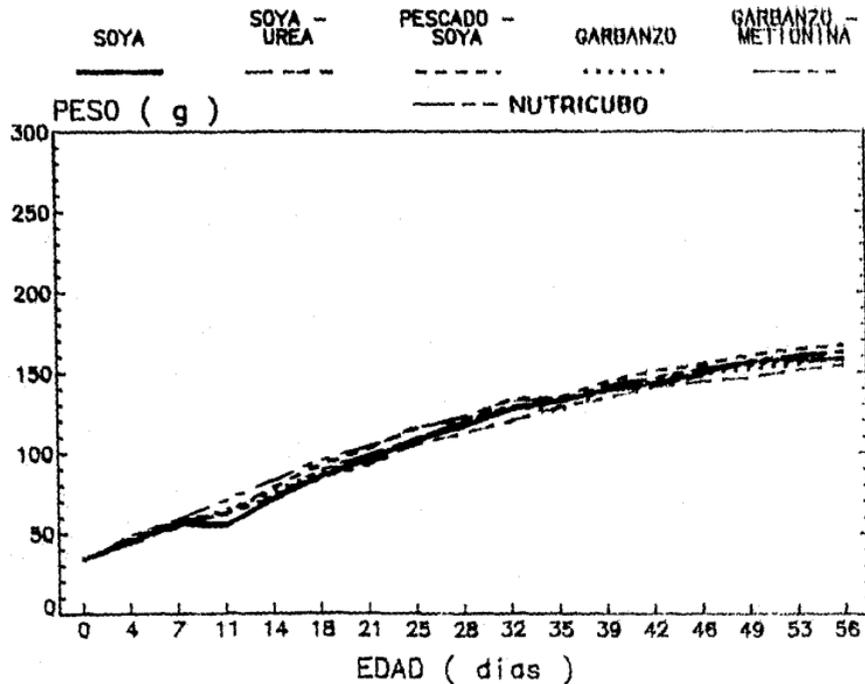
SOYA -
METIONINA

LECHE -
CASEC

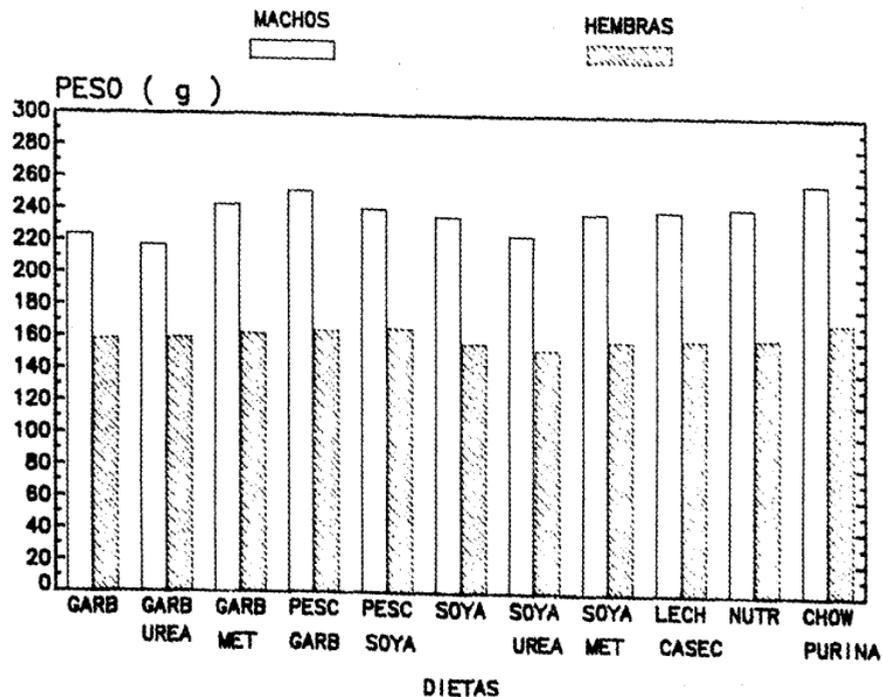
CHOW -
PURINA



CURVAS DE CRECIMIENTO DE LAS RATAS HEMBRA



PESO FINAL DE LAS RATAS ALIMENTADAS DURANTE 56 DIAS CON DIFERENTES DIETAS



dad de crecimiento también se vé influenciada por el contenido de protefna de la - dieta (16%), el cual es inadecuado ya que para que la rata tenga un crecimiento normal, la dieta debe contener un 18% de protefna como mínimo.

Con respecto a las dietas de garbanzo-urea y soya-urea, el crecimiento también - fue pobre porque el nitrógeno de la urea no fue capaz de inducir la síntesis del - aminoácido que está deficiente.

Para el caso de las hembras, se presentó un efecto similar en los grupos alimentados con dietas de soya, soya-urea, garbanzo y garbanzo-urea, esto es una velocidad de crecimiento pobre; sólo que para estos animales, la dieta que presentó la - curva de crecimiento menor, fue la de soya-urea. Las otras dietas obtuvieron una - velocidad de crecimiento ligeramente mayor a la de soya-urea, no existiendo diferencias significativas entre ellas.

La explicación de este efecto, sigue el mismo razonamiento presentado en los grupos de ratas macho, alimentados con las mismas dietas.

Los machos y las hembras alimentados con las dietas de garbanzo-0.6% de metionina y soya-0.6% de metionina, dieron curvas de crecimiento bajas con respecto a la - observada en la dieta chow purina. Por otra parte, comparando los resultados de estas dietas con los de garbanzo, garbanzo-urea, soya y soya-urea; se muestra que la velocidad de crecimiento fue mayor para las dietas de garbanzo-0.6% de metionina y soya-0.6% de metionina. Esto se explica por el hecho de que se suplementaron estas dietas con metionina.

Ahora bien, al comparar estas dietas (garbanzo-0.6% de metionina y soya-0.6% de metionina) entre sí, se observa que la que presenta menor curva de crecimiento es - la de soya-0.6% de metionina, siendo la diferencia mínima.

La curva de crecimiento dada por la dieta de garbanzo-0.6% de metionina, se comparó con la obtenida por la dieta comercial de fabricación nacional nutricubo, notando que existe una diferencia significativa entre las dos, y al compararla con la control (leche-casinato de calcio), se aprecia un ligero aumento no significativo - en la velocidad de crecimiento de la dieta en cuestión.

Respecto a la dieta de soya-0.6% de metionina, los resultados muestran que al - comparar ésta con la dieta comercial de fabricación nacional (nutricubo), la curva de crecimiento de la dieta elaborada, es ligeramente más baja que la obtenida por - la dieta comercial.

De igual forma, al confrontar la curva de esta misma dieta con la curva que presenta la dieta control (leche-caseinato de calcio), se aprecia el mismo efecto que con la dieta comercial.

Estos efectos se presentan tanto en los grupos de machos como en los de las hem-

brás.

Las curvas obtenidas por machos y hembras con las dietas de pescado-garbanzo y pescado-soya, resultaron semejantes o al menos, lo más cercano a la presentada por la dieta comercial de fabricación extranjera chow purina, la cual tuvo la mejor velocidad de crecimiento. Estas mismas dietas, resultaron ligeramente mayores a las que se obtuvieron con las dietas de garbanzo-0.6% de metionina, la dieta comercial de fabricación nacional nutricubo y la dieta control (leche-caseinato de calcio).

Comparandolas entre sí (pescado-garbanzo y pescado-soya), se observa que en el caso de los machos, la que presentó una mejor velocidad de crecimiento fue la dieta de pescado-garbanzo y para las hembras, la dieta que obtuvo una curva ligeramente mejor, fue la de pescado-soya. Quizá la diferencia en las hembras no sea significativa.

Lo que cabe señalar es el hecho de la disminución de la curva que presentaron los machos alimentados con la dieta pescado-soya entre los días 32 y 35 de estudio. Esto se explica porque no se tuvo el cuidado necesario en el bioterio en lo que al suministro de agua se refiere. Notando esta anomalía, se procedió a verificar este aspecto. Posteriormente, ya con las condiciones normales, se aprecia en la gráfica la forma en que fue evolucionando nuevamente la curva hasta llegar a sus niveles óptimos.

En las tablas # 11 y 12 se muestran los pesos ganados de las ratas macho y hembra alimentados con las diferentes dietas experimentadas, así como el consumo total de alimento durante todo el experimento, esto es, desde el día del destete de los animales hasta el día del apareamiento.

Al analizar la tabla # 11 tomando en cuenta la desviación estandar, se aprecia que los animales que aumentaron más de peso fueron los alimentados con la dieta comercial nutricubo y aquellos cuya ganancia de peso fue menor fueron los alimentados con la dieta de garbanzo-urea.

Respecto al consumo de alimento, los que consumieron más alimento fueron los de las dietas comerciales (chow purina y nutricubo), y los que consumieron menos alimento fueron aquellos de las dietas de garbanzo y pescado-garbanzo. Por tanto, la aseveración de que a mayor consumo de alimento mayor peso ganado, se confirma con las ratas de la dieta comercial (nutricubo); no así, la afirmación contraria, en donde los animales que tuvieron el incremento de peso más bajo, no consumieron la cantidad de alimento más baja.

En el caso de las hembras, las que mostraron la mayor ganancia de peso fueron las de la dieta de pescado-soya y la dieta comercial (nutricubo); y las que obtuvie

TABLA # 11
INCREMENTO DE PESO POR CONSUMO DE ALIMENTO EN
RATAS MACHO

DIETAS	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganancia de Peso (g)	Consumo total de Alimento (g)
1.- Garbanzo	36.5±3.7	224.4±7.5	188.8±3.8	837.2±48.6
2.- Garbanzo-Urea	62.0±9.4	218.2±12.3	156.2±2.9	882.4±91.8
3.- Garbanzo-0.6% Met.	35.8±3.2	243.6±8.7	207.8±5.5	339.5±64.5
4.- Pescado-Garbanzo	62.6±9.6	252.4±10.0	189.8±0.4	821.7±64.2
5.- Pescado-Soya	35.6±4.0	241.7±17.9	206.1±13.9	870.0±51.2
6.- Soya	37.0±4.2	237.4±9.4	200.4±5.2	899.1±62.2
7.- Soya Urea	35.2±5.0	225.9±12.3	190.7±7.3	886.5±73.5
8.- Soya-0.6% Met.	62.4±8.6	239.8±9.3	177.4±0.7	857.7±50.2
9.- Leche-Caseinato de Calcio (control)	62.6±8.1	241.4±10.3	178.8±2.2	883.1±68.2
10.- Nutricubo	35.6±2.9	243.6±20.6	208.0±17.7	1012.2±92.1
11.- Chow Purina	62.6±6.9	258.9±3.9	196.3±3.0	1070.1±67.1

TABLA # 12
INCREMENTO DE PESO POR CONSUMO DE ALIMENTO EN
RATAS HEMBRA

DIETAS	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganancia de Peso (g)	Consumo total de Alimento (g)
1.- Garbanzo	34.0±2.7	159.3±4.4	125.3±1.7	721.5±55.0
2.- Garbanzo-Urea	59.8±7.1	160.1±3.1	100.3±4.0	704.6±52.8
3.- Garbanzo-0.6% Met.	34.0±2.7	162.9±2.8	128.9±0.1	693.1±35.7
4.- Pescado-Garbanzo	59.5±8.2	165.4±3.8	105.9±4.4	669.0±50.4
5.- Pescado-Soya	33.6±4.0	167.2±7.2	133.6±3.2	737.5±67.1
6.- Soya	33.8±4.2	158.1±8.2	124.3±4.0	680.0±67.1
7.- Soya-Urea	34.0±3.3	154.6±3.4	120.6±0.1	728.5±59.8
8.- Soya-0.6% Met.	59.7±6.3	160.2±3.8	100.5±2.5	642.7±55.3
9.- Leche-Caseinato de Calcio (control)	58.0±5.3	161.4±5.8	103.4±0.5	735.4±76.9
10.- Nutricubo	34.0±2.1	162.4±6.5	128.4±4.4	817.7±72.0
11.- Chow Purina	59.5±4.9	172.4±10.2	112.9±5.3	827.3±77.2

ron el menor incremento de peso fueron las de las dietas de soya-0.6% de metionina y la control (leche-caseinato de calcio). En relación al consumo de alimento las que más consumieron fueron las de la dieta comercial (chow purina); y las de la dieta soya-0.6% de metionina, resultaron ser las más inapetentes.

En este caso, la aseveración que se cumple es la de que a menor consumo de alimento, menor ganancia de peso; pues así lo muestran las ratas de la dieta de soya-0.6% de metionina.

La digestibilidad "in vivo" de las dietas experimentadas se muestra en la tabla # 13. Los resultados son el promedio conjunto de 12 ratas (6 machos y 6 hembras) y desviación estandar.

Tomando en cuenta la desviación estandar que presentan cada una de ellas, podemos notar que las dietas que se elaboraron con soya y la dieta comercial (nutricubo), fueron las que tuvieron los valores más altos en digestibilidad.

Los valores de las dietas restantes, fueron semejantes entre sí y no difieren mucho de los valores de las dietas que presentaron la mejor digestibilidad.

La dieta que tuvo la digestibilidad más baja fue la comercial (chow purina) con 67.2 ± 9.5 ; y la que mostró la digestibilidad mayor fue la de soya-urea, con un valor de 83.4 ± 5.5 .

Al comparar los valores de las dietas comerciales (nutricubo y chow purina) y la dieta control (leche-caseinato de calcio), se observa que la dieta que resultó más digerible fue la dieta comercial (nutricubo), siguiendo luego la dieta control y por último la dieta comercial (chow purina).

La baja digestibilidad que mostró la dieta comercial (chow purina), se pudo notar al observar las heces de las ratas macho y hembra alimentadas con esta dieta, puesto que se encontraron residuos de la misma en ellas.

Los resultados de las pruebas de fertilidad se presentan en la tabla # 14.

En ella se aprecia que con excepción de las dietas de garbanzo-urea, pescado-soya y soya-urea, las dietas restantes dieron una fertilidad del 100%. Las dietas de pescado-soya y soya-urea mostraron un 80% de fertilidad y la de garbanzo-urea un 83.3%.

Teniendo en cuenta que el valor de 90% de fertilidad (45), es el normal se puede ver que no es grande la diferencia que se presenta al compararlo con los valores obtenidos con estas dietas.

Respecto al número de crías por camada, el valor establecido como normal es de 8-9 crías (45). Luego entonces, al analizar los datos resultantes, se observa que -

TABLA # 13
 DIGESTIBILIDAD "IN VIVO" DE LAS DIETAS
 EXPERIMENTADAS

DIETAS	DIGESTIBILIDAD (%)	% PROTEINA
1.- Garbanzo	76.0±1.8	16.2
2.- Garbanzo-Urea	77.4±1.5	21.7
3.- Garbanzo-0.6% Met.	72.9±3.1	17.5
4.- Pescado-Garbanzo	72.0±6.3	22.9
5.- Pescado-Soya	82.9±2.0	22.5
6.- Soya	75.9±7.2	22.2
7.- Soya-Urea	83.4±5.5	23.1
8.- Soya-0.6% Met.	78.6±1.8	21.8
9.- Leche-Caseinato de Calcio (control)	77.1±2.1	20.9
10.- Nutricubo	77.1±4.0	22.8
11.- Chow Purina	67.2±9.5	22.8

TABLA # 14
FERTILIDAD

DIETAS	# DE EMBARAZOS	PROM. DE CRIAS/CAMADA
1.- Garbanzo	5/5	8.2±4.4
2.- Garbanzo-Urea	5/6	8.8±2.0
3.- Garbanzo-0.6% Met.	5/5	10.8±1.9
4.- Pescado-Garbanzo	6/6	10.0±0.9
5.- Pescado-Soya	4/5	10.5±1.7
6.- Soya	4/4	10.5±1.0
7.- Soya-Urea	4/5	10.0±1.4
8.- Soya-0.6% Met.	6/6	7.8±3.1
9.- Leche-Caseinato de Calcio (control)	5/5	9.8±1.8
10.- Nutricubo	4/4	11.0±1.4
11.- Chow Purina	6/6	11.5±1.9

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

Las hembras de todas las dietas tuvieron un mínimo de 8 crías. Las hembras que más crías tuvieron fueron aquellas que se alimentaron con las dietas comerciales (chow purina y nutricubo) y si tomamos en cuenta las desviaciones estandar, se aprecia - que las que tuvieron también un alto número de crías fueron las de las dietas de - garbanzo-0.6% de metionina, soya y pescado-soya; y las que resultaron más irregulares en el número de crías lo fueron las de las dietas de garbanzo y soya-0.6% de metionina.

CONCLUSIONES.

La presente investigación indica que a pesar de que la mayoría de las dietas elaboradas resultaron bajas en sus niveles de calcio, las dietas experimentadas (pesca-do-garbanzo y pescado-soya), así como las comerciales importada (chow purina) y nacional (nutricubo); son capaces de cubrir los requerimientos nutricionales y calóricos de las ratas, permitiendo que éstas, tengan un buen crecimiento, desarrollo y reproducción.

Los niveles y concentraciones de cada uno de los nutrimentos de una dieta deben ser los adecuados para permitir que los animales puedan llevar a cabo óptimamente todas sus funciones.

La suplementación del garbanzo y la soya con harina de pescado o metionina, aumenta significativamente la calidad nutritiva de éstas materias primas empleadas en la elaboración de alimentos para ratas. Esto puede significar que el requerimiento proteínico puede ser disminuido siempre y cuando la proteína esté bien balanceada en sus aminoácidos esenciales.

El uso de nitrógeno no protéico dentro de un alimento para ratas de laboratorio, no permite que los animales lleven a cabo la síntesis de los aminoácidos faltantes o limitantes que dicho alimento posea.

Considerando la alta disponibilidad, el bajo costo y el alto valor nutricional del garbanzo, la soya, la harina de pescado y las harinas de alfalfa y zanahoria; la utilización de estas materias primas en la elaboración de alimento para ratas, traerá grandes beneficios a los trabajos de investigación nutricional y/o biomédica sobre todo en los países en vías de desarrollo.

- 1.- Baker, D. The Laboratory rat. Reproduction and Breeding I. Animal Medicine - Sciences. New York. Academic Press. 158-166 (1979).
- 2.- Barboriak, J. J., W. A. Krehl and G. R. Cowbill. Pantothenic acid - - - - requirement of the growing and adult rat. J. Nutr. 61:13 (1957).
- 3.- Barki, H., R. A. Collins, C. A. Elvehjem and E. B. Hart. The importance of - the dietary level of fats on their nutritional evaluation. J. Nutr. 40:383 (1950).
- 4.- Beaton, G. H. and W. G. Cheney. Vitamin B₆ requirement of the male albino - rat. J. Nutr. 67:125 (1965).
- 5.- Becker, W. W. and W. G. Hoekstra. Effect of vitamin D on ⁶⁵Zn absorption, - distribution and turnover in rats. J. Nutr. 90:301 (1966).
- 6.- Berg, B. N. and H. S. Simms. Nutrition and longevity in the rat. II. Food - restriction beyond 880 days. J. Nutr. 74:23 (1961).
- 7.- Berhardt, F. W. and R. M. Tomarelli. A salt mixture supplying the National - Research Council estimates of the mineral requirements of the rats. J. Nutr. 89:495 (1966).
- 8.- Breuer, L. H., Jr. W. G. Pond, R. G. Warner and J. K. Loosli. A comparison - of several amino acid and casein for the growing rat. J. Nutr. 80:243 (1963).
- 9.- Bro-Rasmussen, F. The riboflavin requirement of animals and man and - - - - associated metabolic relations. II. Relation of requirement to the metabolism of - protein and energy. Nutr. Abstr. Rev. 28:369 (1958).
- 10.- Brown, M. L. and C. H. Snodgrass. Effect of dietary level of thiamine on - reproduction in the rat. J. Nutr. 85:102 (1965).
- 11.- Bruce, H. M. The water requirement of laboratory animals. J. Anim. Tech. - Assoc. 1:2 (1950).
- 12.- Carlson, A. J. Some obstacles in the path towards an optimum diet. Science - 97:385 (1943).
- 13.- Chen, O. Respiratory exchange and nitrogen balance in the pregnancy rat: - energy cost of anabolic processes of gestation. C. R. Acad. Sci. 256:4755 (1969).
- 14.- Delorme, C. V. and S. Woscir. The effect of dietary cellulose level on the - utilization of amino acid-supplemented bread protein by weaning rats. J. Nutr. 67: - 337 (1982).
- 15.- Escott, M. L. and R. G. Walker. A food pelletter for experimental diets for - rats. Lab. Anim. Sci. 41:366 (1983).
- 16.- Farris, E. J. and J. B. Griffith (ed). The rat in the laboratory - - - - - investigation, 2nd ed. Lippincott, Philadelphia (1949).

- 17.- Forbes, R. M. and M. Yohe. Zinc requirement and balance studies with the - rats. *J. Nutr.* 70:53 (1960).
- 18.- Foster, H. and D. Otis. The mouse in biomedical research. Management and - desing of breeding facilities. IV. *Anim. Med. Sci.* New York Academic Press. 18-33 - (1983).
- 19.- French, C. E., R. H. Ingram, J. A. Uram, G. P. Barron and R. W. Swift. The influence of dietary fat and carbohydrate on growth and longevity in rats. *J. Nutr.* 51:329 (1953).
- 20.- Ganguli, M. C., J. D. Smith and L. E. Handson. Sodium metabolism and its - requirement during reproduction in female rats. *J. Nutr.* 99:225 (1969).
- 21.- Greene, L. W., D. J. Kirk, F. M. Byers and G. T. Schelling. Mineral and - energy balance in rats fee differents level of phosphorus. *Nutr. Rep. Inter.* 32:539 (1985).
- 22.- Gustafsson, B., F. S. Daft, E. G. McDaniel, J. C. Smith and R. J. - - - - Fitzgerald. Effects of vitamin K-active compounds in vitamin K-deficient germfree - rats. *J. Nutr.* 78:460 (1962).
- 23.- Gwinup, G., F. Kruger and J. G. Hamwi. Metabolic effects gorging vs - - - - nibbling. *Md. J.* 60:363 (1964).
- 24.- Harmon, E. M., L. A. Witting and M. K. Horwitt. Relative rates of - - - - depletion of α -tocopherol and linoleic acid after feeding polyunsaturated fats. *Am. J. Clin. Nutr.* 18:243 (1966).
- 25.- Harper, A. E. and Q. R. Rogers. Amino acid imbalance. *Proc. Nutr. Soc.* 24: - 173 (1965).
- 26.- Hartsook, E. W. and H. H. Mitchell. The effect of age on the protein and - methionine requirements of the rat. *J. Nutr.* 60:173 (1956).
- 27.- Holman, R. T. Essential fatty acids. *Nutr. Rev.* 16:33 (1958).
- 29.- Horwitz, W. *Official Methods of Analysis of the Association of Official - - Analytical Chemists.* 11th. (ed). Published by the Association of Official - - - - Analytical Chemists. (1970).
- 29.- Hotzel, D. and R. H. Barnes. Contributions of the intestinal microflora to the nutrition of the host. *Vitamins Hormones* 24:115 (1966).
- 30.- Hsueh, A. M., C. E. Agustín and B. F. Chow. Growth of young rats after - - differential manipulation of material diet. *J. Nutr.* 91:195 (1967).
- 31.- Huber, A. M. and S. N. Gershoff. Some effects of vitamin B₆ deficiency on - rat pituitary glands. *J. Nutr.* 87:407 (1965).
- 32.- Hulanicka, H., J. Erwin and K. Bloch. Lipid metabolism of *Euglena gracilis*. *J. Biol. Chem.* 239:278 (1964).

- 33.- Jaffe, W. G. Requirements of rats for vitamin B₁₂ during growth, reproduction and lactation. *J. Nutr.* 59:135 (1956).
- 34.- Kirksey, A., and R. L. Pike. Some effects of high and low sodium intakes during pregnancy in the rat. I. Food consumption, weight gain, reproductive performance, electrolyte balances, plasma total protein and protein fractions in normal pregnancy. *J. Nutr.* 77:33 (1962).
- 35.- Knapka, J. The mouse in biological research; Nutrition III. *Anim. Med. Sci.* Academic Press, New York. pp. 52-64 (1983).
- 36.- Ko, K. W., F. X. Fellers, and J. M. Craig. Observations on magnesium deficiency in the rat. *Lab. Invest.* 11:294 (1962).
- 37.- Marshall, M. W., and H. E. Hildebrand. Differences in rat strain response to three diets of different composition. *J. Nutr.* 79:227 (1963).
- 38.- McCall, M. G., G. E. Newman, J. R. P. O'Brien, L. S. Valberg, and L. J. Witts. Studies in iron metabolism. I. The experimental reproduction of iron deficiency in growing rats. *Brit. J. Nutr.* 16:297 (1962).
- 39.- McCay, C. M. Effect of restricted feeding upon aging and chronic diseases in rats and dogs. *Am. J. Pub. Health* 37:521 (1947).
- 40.- McCoy, K. E. M., and P. H. Weswig. Some selenium responses in the rat not related to vitamin E. *J. Nutr.* 38:383 (1969).
- 41.- Mertz, W. biological role of chromium. *Fed. Proc.* 26:186 (1967).
- 42.- Metcalf, J., T. J. Cole, and Luff. Fetal growth retardation induced by dietary imbalance of treonine and dispensable amino acid, with adequate energy of protein equivalent intakes, in pregnant rats. *J. Nutr.* 111:1411 (1981).
- 43.- Michells, F. G., and J. T. Smith. A comparison of the utilization of organic and inorganic sulfur by the rat. *J. Nutr.* 87:217 (1965).
- 44.- Musten, B. D. P., and G. H. Anderson. Food intake regulation in the weanling rat: Self-selection of protein and energy. *J. Nutr.* 194:563 (1976).
- 45.- National Research Council. Nutrient requirements of laboratory animals (ed). 21. National Academy of Science, Washington, D. C.
- 46.- Nelson, M. M., and H. M. Evans. Sulfur amino acid requirement for lactation in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99:723 (1958).
- 47.- Nelson, M. M., and H. M. Evans. Dietary requirements for lactation in the rat and other laboratory animals. p. 137 In Kon S. K. and A. T. Cowie (ed). *Milk: The mammary gland and its secretions*, Vol. II. Academic Press, New York. (1961).
- 48.- Nikita, S.S., and R. Rajalakshmi. Fetal liver iron stores in relation to gestational age fetal size and maternal nutrition status. *Nutr. Rep. Inter.* 32:675 (1985).
- 49.- Odell, B.B., B. C. Hardwick, and G. Reynolds. Mineral deficiency on milk and

congenital malformations in the rat. *J. Nutr.* 73:151 (1961).

50.- Quimby, F. H. Food and water economy in the young rat during chronic - - - starvation and recovery. *J. Nutr.* 36:177 (1948).

51.- Ramage, H., J. H. Sheldon and W. Sheldon. A spectrographic investigation of the metallic contents of the liver in childhood. *Proc. Roy. Soc. B.* 113:308 (1953).

52.- Rama Rao, P. B., H. W. Noron and B. C. Johnson. The amino acid composition and nutritive value of proteins. IV. Phenylalanine, tyrosine, methionine and - - - cystine requirements of the growing rat. *J. Nutr.* 73:38 (1961).

53.- Rerat A. and Y. Henry. Effect of intake of vitamins of the B-complex on - - - voluntary intake of energy by the growing rat. *C. R. Acad. Sci.* 258:3935 (1964).

54.- Ross, M. H. Length of life and nutrition in the rat. *J. Nutr.* 75:197 (1961).

55.- Smith, B. S. W. and A. C. Field. Effect of age on magnesium deficiency rats *Brit. J. Nutr.* 21:17 (1963).

56.- Underwood, E. J. Trace elements in human and animal nutrition, 2nd. Ed. - - - Academic Press, New York (1962).

57.- Wayne, G. L., G. R. Bratton, J. Zmundki, G. T. Schelling and F. M. Byres. - Effect of dietary potassium and sodium on magnesium balance in rats fed different - - - concentration of magnesium. *Nutr. Rep. Inter.* 33:235 (1985).

58.- Witting, L. A. and M. K. Horwitt. The effect of antioxidants deficiency on tissue lipid composition in the rat. *Lipid* 2:89.

59.- Wostman, B., C. Larkin, A. Moriarty, Bruckner and E. Kardoss. Dietary - - - intake energy metabolism and excretory losses of adult male germ free wistar rats. XXXIII. *Lab. Anim. Sci.* pp. 46-50 (1983).

60.- Instituto Nacional de la Nutrición. Valor Nutritivo de los alimentos. - - - Tablas de uso práctico. Publicaciones de la División de Nutrición. 7a. Ed. Instituto Nacional de Nutrición, Salvador Z. México, D. F.