

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

FACULTAD DE QUIMICA

**DISEÑO Y VALORACION NUTRIOLOGICA  
DE UN ALIMENTO INFANTIL**

**T E S I S**  
**Que para obtener el título de**  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLGO**  
**p r e s e n t a :**  
**MARIA DEL CARMEN ARIAS VELAZQUEZ**

México, D. F.

1 9 7 5



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

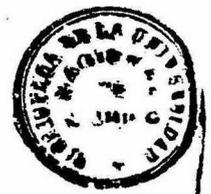
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

LAS Tesis

AGE 1975

FECHA

PROC HIT-25



QUINCA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL

PRESIDENTE:	NINFA GUERRERO DE CALLEJAS
VOCAL:	ENRIQUE GARCIA CAJALANCO
SECRETARIO:	ALEJANDRO GARDUÑO TORRES
1er. SUPLENTE:	ANGELIA SOTELO LOPEZ
2do. SUPLENTE:	RUBEN BERRA Y COSS

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: LABORATORIO DE LA DIVISION DE NU  
TRICION DEL INSTITUTO NACIONAL  
DE LA NUTRICION.

SUSTENTANTE: MARIA DEL CARMEN ARIAS VELAZQUEZ

ASESOR DEL TEMA: ING. ALEJANDRO GARDUÑO TORRES

SUPERVISOR TECNICO: IBQ. JOSE LUIS CAMACHO C.

A mis padres  
que me han dado lo  
más bello de la  
vida: su amor

A mis hermanos con cariño

Con agradecimiento al  
Ing. Alejandro Garduño Torres  
por el asesoramiento  
de este trabajo

A mis queridos maestros y amigos

La presente tesis se llevó a cabo  
bajo los auspicios económicos del  
I.N.N. y del Programa Nacional  
de la Alimentación del CONACYT

Con especial agradecimiento al  
IBQ. José Luis Camacho C.  
por su valiosa ayuda

Con agradecimiento al  
Dr. Héctor Bourges R.  
por tan acertada colaboración

Con agradecimiento al  
IBQ. Eduardo Mendoza  
y al  
Dr. Adolfo Chávez V.

## INDICE DE CAPITULOS

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIAL Y METODOS	18
III. RESULTADOS	49
IV. DISCUSION	66
V. CONCLUSIONES	75
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	77

CAPITULO I

---

INTRODUCCION

Desde la antigüedad la humanidad ha vivido con la -- constante preocupación de su alimentación; el hombre prehistórico llevaba una vida errante, pues se dedicaba a buscar plantas y animales para alimentarse. Con el advenimiento de la agricultura, cambió su vida de nómada a sedentario; pero siguió con la misma preocupación, pues pronto aprendió que la alimentación era la base de su desarrollo tanto físico como intelectual y que si no satisfacía esta primera necesidad, no lograría satisfacer debidamente cualquiera otra.

Aún en pleno siglo XX, a pesar del desarrollo alcanzado, de los avances científicos y los desarrollos tecnológicos, no ha podido el hombre resolver satisfactoriamente el problema de una adecuada alimentación, ya que las dos terceras partes de la población mundial consumen una dieta incorrecta.

Cálculos conservadores demuestran que en el mundo --

existen 460 millones de personas con hambre permanente y que por lo menos el 40% son niños. Toda esta gente pertenece a los sectores marginados de las grandes ciudades y a los sectores rurales.<sup>11</sup>

El economista Malthus exponía en su ensayo sobre el principio de la población que "los medios de existencia aumentan en progresión aritmética en tanto que la población -- crece en progresión geométrica".<sup>4</sup> Asimismo, sus adeptos tratan de demostrar que la sobrepoblación del globo terrestre es la única causa de todas las desgracias sociales.

Desde este punto de vista no es posible explicar el hecho de que un continente como Africa, típico por el lento crecimiento de su población, posea el más bajo nivel de vida, o que Kenya, que tiene una densidad de población 21 veces menor que Inglaterra, cuente con una renta per cápita 16 veces menor que ese país, al igual que Bolivia, donde la densidad de población y la renta per cápita son respectivamente 35 y 7 veces menores que en los Estados Unidos (la renta caracteriza el grado de riqueza del país, así como el bienestar material del pueblo).

Malthus, en su teoría, plantea el crecimiento de la población como un problema aislado, sin tomar en cuenta que-

está estrechamente relacionado con las condiciones económicas y políticas; asimismo, no toma en cuenta los recursos de la naturaleza, y subestima al hombre respecto a su conocimiento de la misma para su beneficio y aprovechamiento.<sup>19</sup>

Datos oficiales de la FAO muestran que sólo el 17% de la población mundial ingiere más de 30 g de proteína de origen animal por día (cantidad juzgada suficiente), mientras que un 25% consume apenas de 15 g a 30 g y el 58% restante dispone de una cantidad inferior a los 15 g diarios. La falta de proteínas y otros nutrimentos tales como sales minerales y vitaminas en las dietas, se manifiestan en forma bien caracterizada por síndromes clínicos: marasmo, kwashiorkor, pelagra, beriberi, escorbuto, etc. Las carencias son principalmente, el resultado de una alimentación errónea a lo largo de la vida.

Siempre ha existido un desequilibrio social; la miseria y el hambre han sido compañeras habituales contrastando con el lujo y la riqueza.<sup>22</sup> Y si bien es cierto que la naturaleza ofrece recursos enormes para satisfacer las necesidades de subsistencia de las poblaciones, es preciso que se tome conciencia de estos hechos y que la repartición de la riqueza sea más justa y equitativa. Se calcula que sólo el 10% de las áreas cultivables en el mundo están en producción,

quedando aún grandes reservas por explotar. Tal aseveración fue hecha por los científicos que participaron en el 17° Congreso Internacional de Geografía; al valorar la capacidad mundial de producción de alimentos a través del aprovechamiento de mayores áreas de cultivo y del mejoramiento de técnicas agrícolas. A través de este mejoramiento es posible intensificar la producción agrícola; lo que significa que la desnutrición no es producto de la pobreza de los suelos; la desnutrición es, ante todo, producto de una mala distribución y de una deficiente planificación de la economía. Si se observan las áreas donde existe una deficiente alimentación, fácilmente se puede notar que pertenecen a los lugares que hasta hace poco vivieron o viven aún bajo un régimen colonialista como Asia, Africa y América Latina; sitios en los cuales la ingestión de una dieta inadecuada coincide con su elevado aumento de población y su pobreza.<sup>7</sup>

A pesar del aumento de la producción agrícola, a partir de la última década las reservas de alimentos han disminuido notablemente. Analizando el problema se observa que el aumento en la demanda de alimentos corresponde a: un aumento en la demanda de cereales para uso forrajero; al incremento de la fabricación de productos suntuarios que tienen alto precio<sup>3</sup> (productos que serán destinados a sociedades en

auge). La disminución de reservas se debe a: una serie de - condiciones climatológicas adversas como intensas sequías, - sobre todo en zonas semiáridas, que han menguado la produc-- ción de alimentos y a la escasez de energéticos, ya que el - principal material crudo utilizado en la agricultura moderna de los Estados Unidos y de más países desarrollados es el pe tróleo, producto natural no renovable. Siendo la agricultu-- ra dependiente de la energía, el costo de la producción tam-- bién tiende a elevarse al parejo del incremento de los cos-- tos de combustible. Se tiene la seguridad de que las fuen-- tes de energía tradicionales son escasas y su precio se ha - elevado mucho, por lo que se debe pensar en otras fuentes de energía, pues resulta antieconómico invertir 1 Kcal de com-- bustible para producir una cantidad de maíz que proporcione- 2.8 Kcal.<sup>26</sup>

Toda esta serie de factores ha provocado un alza en- los precios de los alimentos, poniéndolos cada vez más fuera de alcance de las gentes de escasos recursos económicos.

No se puede negar la importancia del ritmo de creci- miento de la población mundial, la cual en la actualidad es- de 3,400 millones de personas, con un incremento semanal de- 1,200,000 personas; se prevé que para 1981 la tierra tendrá- 5,000 millones de habitantes y para el año 2000 tendrá de --

6,000 a 8,000 millones de personas (de este acelerado crecimiento demográfico, corresponde gran parte a los países en desarrollo), y los aspectos sociales e históricos tales como el bajo nivel de agricultura de los países en desarrollo y su penoso estado de economía. Se concluye que la situación se ha de agravar aún más en un futuro no muy lejano, pues como señalara Boyd-Orr, "la producción de alimentos no ha alcanzado jamás su pleno desarrollo porque la civilización occidental se ha propuesto como finalidad de la producción no crear la cantidad de alimentos indispensable para satisfacer las necesidades de la humanidad, sino la producción de alimentos que se puedan vender ventajosamente".

Así pues, se hace patente la diferencia en el suministro de proteínas y calorías entre las gentes pertenecientes a los países desarrollados y a la gente de los países en desarrollo. En el siguiente cuadro se podrá observar tal diferencia.

#### INGESTION DIARIA PER CAPITA DE NUTRIMENTOS

Nutrimentos	Países	
	Desarrollados	En desarrollo
Proteínas animales	44 g	9 g
Proteínas totales	90 g	58 g
Valor energético	3,060 Kcal	2,150 Kcal

Esto significa que los habitantes de los países en desarrollo reciben aproximadamente una tercera parte menos de calorías y aproximadamente cinco veces menos proteínas -- animales que lo que reciben los habitantes de los países desarrollados.

En los países en desarrollo predomina el consumo de productos de origen vegetal sobre todo las gramíneas. Dependiendo de cada región el alimento básico es arroz, trigo, -- maíz, etc.

Los cereales tienen una baja calidad proteínica, ya que son pobres en algunos aminoácidos indispensables tales -- como la lisina, la treonina, la metionina y el triptófano. -- Por lo tanto se requiere intensificar la producción agrícola, especialmente en el incremento de cereales y aumentar su valor biológico por medio de la genética, como se ha hecho en los últimos años, en los que se han logrado variedades de -- trigo y arroz con un contenido mayor de lisina.<sup>27</sup>

En México, al igual que en el resto de los países en desarrollo, existen altas tasas de desnutrición que son notorias, sobre todo en los sectores rurales y en las áreas periféricas de las grandes ciudades, cuyo signo común es una alimentación inadecuada, deficiente y de mala calidad; la falta

de servicios, habitación paupérrima, escolaridad mínima o nula, condiciones de vida insalubres y desempleo. En lo con--cerniente al sector rural, la situación que se presenta es - un aislamiento del resto de la sociedad; como consecuencia - de esto el 4% de la población no habla castellano sino diversos dialectos. En ellos prevalece la cultura indígena, su - herencia es la mala alimentación teniendo un bajo rendimien--to físico e intelectual con respecto a las personas bien ali--mentadas.<sup>30</sup>

Se manifiesta una situación contrastante donde por - un lado las ciudades gozan de los privilegios de la urbaniza--ción y una mejor alimentación y por el otro los sectores ru--rales y los sectores marginados carecen de esos privilegios.

México, en el año de 1969 disponía de 2,600 Kcal, 72 g de proteínas totales y 22 g de proteína animal per cápita, cantidades que de acuerdo a las recomendaciones de la FAO -- (2,600 Kcal, 70 g de proteínas totales y 25 g de proteína -- animal) para países de escaso desarrollo, llenan el 100% y - el 88% de las recomendaciones de energía y proteína animal - respectivamente. Tales cifras no demuestran la realidad de--la situación, pues son tan sólo un promedio. Solamente una--minoría consume casi la mitad de la disponibilidad de los -- alimentos nacionales; por ejemplo, el Distrito Federal con -

sólo el 15% de la población del país en ese mismo año, consumía 30.6% de la cantidad total de leche; 39.5% de la cantidad total de huevo y 58% del total de carne de aves.<sup>29</sup> Una encuesta realizada por el Departamento de Estadística de la Secretaría de Industria y Comercio muestra que cerca de 10 millones de personas no consumen carne en ningún día de la semana; que más de 11 millones no consumen huevos, que más de 18 millones no ingieren leche, que más de 33 millones no consumen pescado y que más de 11 millones no comen pan.<sup>24</sup>

Las gentes de escasos recursos económicos no pueden adquirir alimentos variados, por lo que su dieta es casi siempre a base de maíz, frijol y algunas verduras.

Generalizando se puede decir que existe una muy mala nutrición sobre todo en el centro del país, desde el Bajío hasta Zacatecas y Durango, un anillo alrededor del Valle de México, incluyendo el estado de Guerrero, Oaxaca, Chiapas y la zona henequera de Yucatán.<sup>29</sup>

En el decenio pasado México incrementó su producción de alimentos a niveles sin precedente, de tal forma que exportó grandes cantidades de ellos. Pero en los años subsiguientes la producción de cereales para consumo humano disminuyó, de tal forma que de 11.6 millones de toneladas en el -

año de 1971 bajó a 10.8 millones de toneladas en 1972 y a --  
10.3 millones de toneladas en 1973. También disminuyó la --  
producción de leguminosas (principalmente frijol) y oleagino--  
sas. Existe la tendencia de ocupar las tierras más fértiles  
para producir piensos, alimentos de exportación y alimentos--  
para industrialización, dejando las tierras más pobres, sin--  
tecnología y sin financiamiento para producir alimentos básic--  
cos.<sup>28</sup>

### Nutrición en madres y niños

La formación de un ser desde sus primeras manifesta--  
ciones de vida, hasta su nacimiento y desarrollo, está condi--  
cionada al medio ambiente que le rodea.

Un niño desde su vida prenatal depende de la madre;--  
por esto una madre desnutrida causará en su hijo un desarro--  
llo limitado, pues tiene una placenta más pequeña y concen--  
tra menos nutrimentos, por lo que en el niño aumentan las po--  
sibilidades de nacer con bajo peso. Algunos estudios reali--  
zados por el INN han demostrado que, en las comunidades po--  
bres, aproximadamente el 48% de los recién nacidos pesan me--  
nos de 2.5 Kg.<sup>5</sup>

En estas condiciones, los niños tienen un retraso en  
su desarrollo motor y lingüístico; poco contacto con su ma--

dre y el medio ambiente. Esta falta de relación con el medio que les rodea y además la falta de afectividad hacia ellos posiblemente sea la causa que en su vida adulta sean individuos con poca confianza en sí mismos, poca iniciativa y poca autonomía.

Un individuo con estas características, integrado a una sociedad semejante, formará una sociedad apática y de escasa actividad; es decir, una sociedad subdesarrollada que difícilmente podrá salir de su penoso estado por sí sola.<sup>10</sup>

### Lactancia

Estudios realizados por Martínez y colaboradores<sup>20</sup> demostraron que las madres mal alimentadas, no pueden producir más de 700 ml de leche al día, cantidad sólo suficiente en nutrimentos para un niño de 7 Kg (de 3 a 4 meses). Por lo tanto a partir del primer trimestre de vida la leche materna no cubre la creciente demanda de calorías y proteínas del infante y consecuentemente a esa edad el niño comienza a desnutrirse. El primer síntoma de una deficiencia calórico-protéica es un retraso en el crecimiento y en las fases más avanzadas se presenta marasmo o kwashiorkor. Los niños que sobreviven a esta crisis presentan un desarrollo incompleto tanto física como intelectualmente.<sup>23</sup>

## Hábitos alimentarios

En las áreas rurales nunca les dan el pecho a los niños durante las primeras 48 a 72 horas de vida, sólo reciben agua azucarada o bien los alimenta una madre "madura" durante las primeras 24 horas; esta costumbre es poco favorable - pues hace que disminuya la producción de leche, por no haber sido estimulada desde un principio. Sólo en ciertas regio--nes indígenas alimentan al niño desde un principio con calogtro. Otras prácticas de las madres en el medio rural son: - la administración de aceite vegetal al niño "para lavarle el intestino" y un baño que recibe la madre semejante al sauna- (Temazcal) para que se "cueza la leche". Durante los tres - primeros meses de vida la alimentación del niño es exclusivamente el pecho materno. La alimentación suplementaria en -- las zonas rurales se inicia en forma tardía y además es de - mala calidad, pues generalmente dan al niño atole y caldo de frijol en pequeñas cantidades, alimentos que por sí solos no pueden cubrir todos los requerimientos. La administración - de productos sólidos la efectúan las madres hasta después de los 10 meses de edad; naturalmente esta demora en la alimen- tación suplementaria hace que los niños se adapten a tal si- tuación y demanden menos, pues su actividad física se ha condicionado a una dieta deficiente.<sup>14</sup>

Otro factor importante es el nivel cultural, pues -- tanto en las zonas rurales como en los sectores marginados -- se tienen altas tasas de mortalidad infantil causadas por infecciones gastrointestinales acompañadas de diarreas, debido a la falta de conocimiento de las reglas más elementales de higiene.

Cuando se presentan enfermedades infecciosas del aparato digestivo en los niños, las madres suspenden la alimentación, favoreciendo aún más su estado de desnutrición, que en los casos más graves los puede llevar hasta la muerte.<sup>36</sup>

Ante la situación antes planteada, es necesaria una mayor disponibilidad de alimentos de buena calidad que cubran los requerimientos de los niños a partir de los tres -- primeros meses de edad; estos alimentos deben reunir las siguientes características:

- A. Alto valor nutritivo
- B. Bajo costo
- C. Cualidades organolépticas aceptables
- D. Fácil manejo y conservación

Los estudios realizados al respecto muestran que este tipo de alimentos tienen buena aceptación.<sup>8</sup> El diseño y la elaboración de un alimento infantil que ayude al niño du-

rante las primeras etapas de su vida, constituiría un aporte a la solución del complejo problema de la desnutrición.

### Objetivo del trabajo

Diseñar, desarrollar y evaluar un alimento infantil- de bajo costo, alto valor nutritivo, conservación prolongada y fácil manejo; que aporte una relación calórica-protéica -- adecuada para niños de 3 meses a 2 años de edad. Se pensó - elaborar el alimento en dos presentaciones:

#### 1. Bebida instantánea

Producto en polvo que tendría la ventaja de ahorrar- espacio en el almacenamiento debido al poco volumen que ocu- paría, además, presentaría pocos problemas de contaminación- bacteriana por su bajo contenido de humedad; tan sólo requie- riría un empaque adecuado.

#### 2. Papilla

Esencialmente sería lo mismo que en el caso anterior, pues también sería un producto en polvo con objeto de aho--- rrar espacio tanto en su transporte como almacenamiento. A- este alimento se le adicionarían espesantes para que al mo-- mento de prepararse tuviera una consistencia adecuada.

Se introdujo esta variante para que el producto fuese más versátil en la dieta infantil.

Para el desarrollo de este trabajo se siguió el programa que a continuación se da:

1. Análisis bromatológico de materias primas

Humedad

Cenizas

Proteínas

Grasa cruda

Fibra cruda

Carbohidratos

Determinación de vitamina C

2. Determinación de la composición de aminoácidos de las materias primas.
3. Cálculos de las mezclas de mayor calidad protéica a base de los ingredientes mencionados, tomando como ideal el patrón de la FAO de 1957.
4. Análisis bromatológico de las mezclas seleccionadas.
5. Determinación de la composición de aminoácidos de las mezclas seleccionadas.
6. Evaluación biológica de las mezclas:
  - a) Relación de eficiencia protéica (REP)

b) Utilización neta de la proteína (UNP)

7. Diseño de formulaciones con sabores, colores artificiales, emulsificantes y espesantes a base de - las mezclas seleccionadas.
8. Pruebas de aceptación y anaquel.
9. Pruebas de materiales de empaque.

CAPITULO II

---

MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL

Las materias primas utilizadas en el diseño del alimento infantil, fueron las siguientes: leche en polvo descremada, suero de leche y harina de soya. Las dos primeras se obtuvieron por conducto de CONASUPO y la harina de soya fue proporcionada por la Compañía Industrial de Alimentos, S. A. En seguida se darán las cualidades de las materias primas:

A. Leche en polvo descremada. Este es un alimento - que contiene proteínas de buena calidad, de fácil digestibilidad y de características organolépticas agradables. Por su estado físico es de fácil transporte, y no representa un problema importante de contaminación bacteriana (manejándolo adecuadamente). Actualmente su precio por Kg es de \$ 18.50- (al mayoreo) con un contenido de proteínas de 34.8 g/100 g - de producto.

B. Harina de soya. Aporta proteína vegetal de calidad intermedia. Se utilizó harina de soya tipo SH (sustituto de huevo), que, como su nombre lo indica, ha recibido un tratamiento que trata de reproducir las características funcionales del huevo. Su disponibilidad es buena. En México se producen 400,000 Ton/año de frijol soya, se importan ---- 300,000 Ton/año; o sea que en total se dispone de 700,000 -- Ton/año de frijol soya, de las cuales el 2% se destina para el consumo humano,<sup>15</sup> pero se espera que aumente la proporción para consumo humano. El precio de esta harina es de -- \$ 8.50 el Kg (en el comercio) con un aporte de proteínas de 42.9 g/100 g de producto.

C. Suero de leche. Dada la gran demanda de oxígeno que requiere el suero para degradarse, es un fuerte contaminante ambiental, sobre todo de los países productores de queso; por lo tanto su aprovechamiento resulta doblemente benéfico.<sup>16</sup> Contiene proteínas de muy buena calidad y por tanto su utilización en la alimentación infantil resulta conveniente. Su principal desventaja reside en su elevado contenido de sales minerales (8.65%), de las cuales el ion sodio representa un 6.24%.\* Sin embargo, mediante un tratamiento adecuado es posible eliminar parte de estas sales, o bien utili

---

\* (Se agradece a la Srita. Perla Peña su valiosa ayuda en esta determinación).

zar el suero tal cual dentro de ciertos límites, diluyéndolo en mezclas con otros materiales protéicos con los cuales haya una buena complementación en el patrón de aminoácidos que lo compongan.

Además, tiene la ventaja de que por ser un producto en polvo resulta fácil su transporte. Su precio por Kg es de \$ 5.00 (al mayoreo) con un aporte de proteínas de 12.43 g/100 g de producto.

#### METODOS

#### Determinación de humedad<sup>25</sup>

##### Material:

Cajas de Petri  
Estufa de vacío  
Termómetro  
Desecador  
Balanza

##### Método:

En una caja de Petri tarada se pesan de 2 a 3 g de muestra, se extiende sobre la superficie del recipiente, se coloca en una estufa de secado a presión reducida de 15 mm -

de mercurio y se regula la temperatura a 60°C, manteniéndose así por un período de cinco horas; al cabo de este tiempo, - se saca la caja y se coloca en un desecador para que adquiere la temperatura ambiente; una vez fría se pesa y se vuelve a colocar en la estufa para continuar el secado hasta obtener peso constante.

### Determinación de cenizas<sup>1</sup>

#### Material:

Crisoles de porcelana

Mechero

Mufla

Desecador

Balanza

#### Método:

En un crisol de porcelana tarada a 550°C se colocan de 3 a 5 g de muestra, que se incineran con la flama del mechero. Luego se introduce a la mufla a una temperatura de 550°C, hasta obtener cenizas grises o blancas (una gota de agua destilada ayuda a calcinar la muestra). Se coloca en un desecador para enfriarse y se pesa el crisol.

#### Cálculos:

El porcentaje de cenizas está dado por la diferencia

entre el peso de crisol con muestra y el peso del crisol con cenizas relacionado a 100.

### Determinación de proteínas<sup>17</sup>

La determinación de proteínas por el método Kjeldahl se basa en la oxidación de la materia orgánica por acción -- del ácido sulfúrico, fijándose el nitrógeno como sulfato de amonio, que posteriormente se libera por la acción de una base fuerte, y se recibe en un ácido valorado; por titulación-- del ácido neutralizado se calcula la cantidad de nitrógeno - contenido en la muestra, que multiplicado por un factor nos- da la cantidad de proteínas.

#### Material:

Aparato de digestión y destila-  
ción Kjeldahl "LABCONCO"

Matraces Kjeldahl de 600 ml

Matraces Erlenmeyer de 500 ml

Bureta

#### Reactivos:

Acido sulfúrico conc. R.A.

Hidróxido de sodio Q.P. al 50%

Acido bórico R.A. al 2%

Acido sulfúrico R.A. O.IN

Zinc metálico R.A.

Indicador rojo de metilo

Mezcla digestora:

Sulfato de potasio R.A. 200 g

Sulfato de cobre R.A. 20 g

Dióxido de selenio 5 g

Método:

En un papel glacine se pesa 0.5 g de la muestra, se coloca en el matraz de Kjeldahl, se le añaden 8.5 g de mezcla digestora, unas perlas de vidrio y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se coloca en la unidad digestora hasta obtener una solución transparente. Posteriormente se deja enfriar, se agregan 300 ml de agua destilada, 90 ml de hidróxido de sodio, unos granitos de Zn y se destila. El destilado se recibe en 50 ml de ácido bórico (que tendrá dos gotas del indicador) hasta llegar a un volumen de 250 ml. Se titula con ácido sulfúrico 0.1 N hasta un vire rosa. Al mismo tiempo se hace un blanco con reactivos para corrección.

Cálculos:

$$\%N = \frac{(\text{ml de H}_2\text{SO}_4 \text{ prob} - \text{ml H}_2\text{SO}_4 \text{ bco}) \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times \text{meq.} \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor de nitrógeno}$$

## Determinación de grasa cruda<sup>1</sup>

Es la fracción soluble en disolventes orgánicos, o sea lípidos simples, lípidos complejos, y lipoides.

### Material:

Aparato extractor de grasas "LABCONCO"

Cartuchos de porcelana porosos

Vasos para grasas

Desecador

### Reactivo:

Mezcla de cloroformo-metanol R.A. (dos a uno)

### Método:

Pesar de 2 a 5 g de muestra, colocarla en un cartucho; si es un polvo fino, ponerle un tapón de algodón para evitar que se salga la muestra. A los vasos a peso constante se les ponen 40 ml de la mezcla de disolventes y junto con los cartuchos se colocan en el aparato. Se dejan a reflujo hasta que la extracción de grasa sea completa. Después se destilan los disolventes hasta eliminación y los vasos se ponen en la estufa por 30 minutos; se dejan enfriar en un desecador y se pesan.

### Cálculos:

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{\text{Grasa extraída}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

### Determinación de fibra cruda<sup>1</sup>

La fibra cruda es toda aquella materia orgánica generalmente fibrosa que resiste el ataque de la sosa y el ácido sulfúrico hirviente. Representa la celulosa, hemicelulosa, lignina y otro tipo de sustancias no metabolizables; su determinación se hace con la muestra desengrasada.

### Material:

Condensador de fibra cruda "LABCONCO"

Vasos Berzelius de 600 ml

Filtros California 200 mallas

Crisoles de porcelana

Estufa, mufla

### Reactivos:

Acido sulfúrico R.A. al 1.25%

Hidróxido de sodio R.A. al 1.25%

Alcohol etílico al 99.5%

Asbesto tratado

### Método:

Se colocan 2 g de muestra en un vaso Berzelius, se -

le agregan 200 ml de ácido sulfúrico y un poco de asbesto -- tratado, se calienta en el condensador y cuando se inicia la ebullición, se mantiene durante 30 minutos exactos, se filtra a través de los filtros California con ayuda del vacío y se lava con agua caliente hasta neutralidad. Cuando está -- neutro se pasa al vaso Berzelius y se le adicionan 200 ml de hidróxido de sodio y se sigue el mismo procedimiento que el de la hidrólisis ácida. Una vez neutro el contenido se pasa a un crisol Gooch tarado y se enjuaga con dos porciones de 5 ml de éter. Se coloca en un crisol en la estufa a 130°C hasta peso constante, se pone en un desecador y cuando está --- frío se pesa. Una vez que se ha pesado se pone el crisol en la mufla hasta calcinación completa, se enfría en un desecador y se pesa.

#### Cálculos:

La diferencia de pesadas nos da el contenido de fibra cruda, que se relaciona a 100.

#### Determinación de carbohidratos asimilables

La cantidad de carbohidratos asimilables se calcula por diferencia. Se suman los resultados de las determinaciones: humedad, cenizas, proteínas, grasa cruda y fibra cruda. Todo esto se resta de 100, considerándose esta diferencia co

mo los carbohidratos asimilables contenidos en la muestra.

### Determinación de vitamina C<sup>35</sup>

#### Fundamento:

En el análisis de las vitaminas, las proteínas y almidones existentes en la muestra interfieren en su determinación, por lo tanto es necesario efectuar una hidrólisis ya sea ácida, alcalina o enzimática; siendo esta última la más conveniente. Ya que las enzimas son capaces de atacar moléculas protéicas enteras evitando que las vitaminas queden -- ocluidas en la muestra, sin destruir las vitaminas.

#### Hidrólisis enzimática<sup>2</sup>

#### Reactivos:

Pepsina en polvo actividad de 400-525 U/mg

Takadiastasa en polvo; licúa en 10 min su peso de almidón en seco

Solución reguladora de acetato de sodio, -  
R.A.; 2.5 M

Acido sulfúrico R.A. al 0.1 N

#### Procedimiento:

En un matraz se coloca 1 g de la muestra desengrasada y se le adicionan 20 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1 N. Se calienta en baño maría en ebullición durante 45 minutos, agitando even--

tualmente y se enfría. Se agrega 0.5 g de pepsina, 0.5 g de diastasa, 5 ml de agua, 1.65 ml de solución reguladora y se ajusta el pH a 4.5, con solución reguladora de acetato de sodio 2.5 M. Se tapa el matraz, se incuba durante 3 horas a 45°C, agitándolo de vez en cuando y se enfría. Se afora a 50 ml con agua destilada. Se filtra a través de papel Whatman #42 y se desechan los primeros 5 ml del filtrado. El resto de la solución libre de proteínas se guarda en frascos color ámbar, en el congelador.

#### Determinación de vitamina C<sup>31, 18</sup>

El método está basado en la oxidación del ácido ascórbico a dehidroascórbico en presencia de carbón activado. El ácido dehidroascórbico reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina para formar la 2,4-dinitrofenilhidrazona, la cual se disuelve en ácido sulfúrico para dar una solución colorida, que se lee en un fotocolorímetro.

#### Material y reactivos:

Fotocolorímetro Baush & Lomb.

2,4-Dinitrofenilhidracina R.A. al 2%

Carbón activado

Acido oxálico al 0.5%

Acido sulfúrico al 85%

## Solución de tiourea al 10%

### Solución tipo:

Se pesan 50 mg de ácido ascórbico USP, y se afora a 100 ml con ácido oxálico al 0.5%. Se tiene una concentración de 500 microgramos/ml.

### Solución intermedia:

Se toman 2 ml de la solución tipo y se aforan a 100 ml con ácido oxálico al 0.5%.

### Solución de trabajo:

Se toman 4 ml de la solución anterior y se afora a 50 ml, se tiene una concentración de 1.6 microgramos/ml.

### Procedimiento:

Se toman 2 ml del problema libre de proteínas, se afora a 100 ml con ácido oxálico al 0.5% y se homogeneiza. De esta solución se toman 40 ml y se le adiciona aproximadamente 0.5 g de C activado; se agita vigorosamente la mezcla durante 1 minuto y se filtra a través de papel Whatman #42.

Del filtrado se toman 4 ml y se ponen en un tubo marcado "blanco" y otros 4 ml en dos tubos marcados "problema"; a cada tubo se agregan 2 gotas de tiourea al 10% y se agitan. A los tubos marcados "problema" se les adiciona 1 ml de la -

solución 2,4-DNFH y se mezclan perfectamente. Se ponen los-tubos en baño maría, en ebullición durante 10 minutos exacta-mente para inmediatamente después colocarlos en un baño de -hielo, dentro del cual se les adiciona a cada uno 5 ml de -- $H_2SO_4$  al 85% y se agita. Una vez fríos, al tubo marcado ---"blanco" se le adiciona 1 ml de la solución de 2,4-DNFH y se mezcla. Se lee en un fotocolorímetro a 515 milimicras, ajus-tando con un blanco de agua destilada a 100% de transmitan--cia. Con tablas se transforma a densidad óptica y se resta-la lectura del blanco a la del problema; este valor se inter-pretar en una curva tipo, obteniéndose microgramos de vitami-na C.

Curva patrón:

Se toman 2 ml de solución tipo, y se afora a 100 ml-con ácido oxálico al 0.5%. Se toman 40 ml de la solución an-terior, se le adiciona 0.5 g de C activado, se agita durante 1 min, y se filtra; del filtrado se toman las siguientes alí-cuotas: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ml, se completa el volumen a 5 ml con ácido oxálico al 0.5% y se sigue el proce-dimiento ya indicado.

Cálculos:

$$\text{mg de Vit C} = \frac{\text{Lectura de la curva (conc. en microgramos)} \times \text{F.D.} \times 100}{1000 \times \text{ml de alícuota} \times \text{ml de muestra}}$$

F.D. = Factor de Dilución

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE  
AMINOACIDOS EN LA PROTEINA<sup>12</sup>

Fundamento:

Esta determinación se basa en el método desarrollado por Stein-Moore, que permite cuantificar los aminoácidos en una mezcla de ellos. El método consiste en:

- La separación de los aminoácidos por medio de columnas de resinas sintéticas de intercambio iónico, usando como eluyentes soluciones reguladoras de citrato de sodio.<sup>33</sup>
- Formación de un complejo colorido para la reacción del aminoácido-eluyente-ninhidrina a una temperatura óptima.
- Medida de la intensidad de color por medio de un colorímetro y esta intensidad es graficada por un graficador automático sobre papel logarítmico.

Material y reactivos:

Analizador automático de aminoácidos Beckman modelo 116

Pipeta de 2 lambdas

Solución reguladora de citrato de sodio pH 3.25

Solución reguladora de citrato de sodio pH 4.30

Solución reguladora de citrato de sodio pH 5.25

Hidróxido de sodio 0.2 N

Ninhidrina

Muestra de proteína hidrolizada

Preparación de la muestra hidrolizada:

Aparatos y material:

Solución reguladora de citrato de sodio 2 N pH 2.14

Acido clorhídrico 6 N

Evaporador rotatorio al vacío

Baño de aceite

Matraces redondos de fondo plano de 250 ml

Refrigerantes y filtros porosos

Método:

Se pesan de 50 a 150 mg de la muestra desengrasada y se le adicionan 60 ml de HCl 6 N y se lleva a reflujo en un baño de aceite durante 24 a 35 horas. La solución hidrolizada se filtra para eliminar huminas y el filtrado se evapora a sequedad hasta eliminar todo el ácido clorhídrico, se lava

con porciones de agua destilada evaporando cada vez; el residuo se disuelve en solución reguladora de citrato de sodio y el volumen se ajusta a 25 ml con la misma solución.

Muestra oxidada:

La hidrólisis ácida altera algunos aminoácidos como el triptófano, metionina y cisteína, por lo que antes de hidrolizar es necesario oxidar la proteína con ácido perbórmico, y así la cisteína se transforma a ácido cistéico y la metionina en la sulfona correspondiente, que soportan las condiciones de la hidrólisis.

Material:

Evaporador rotatorio al vacío

Pipetas volumétricas

Acido perbórmico (4.5 ml de ácido fórmico  
al 80% + 0.5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Método:

Se pesan de 50 a 100 mg de muestra desengrasada y se colocan en un matraz y se le agregan 1.5 ml de ácido perbórmico, se deja 15 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se evapora el ácido al vacío y se procede en la misma forma que la muestra sin oxidar.

El cálculo de la cantidad de aminoácidos se hace de-

terminando el área bajo el pico que se obtiene con cantidades conocidas de cada aminoácido y relacionando el área que se obtiene con la proteína de prueba.\*

### Determinación de triptófano<sup>32</sup>

#### Fundamento:

La determinación de triptófano en proteínas se lleva a cabo en dos fases:

- Combinación del triptófano con p-dimetilaminobenzaldehído, con solución de ácido sulfúrico para formar productos de condensación incoloros.
- Desarrollo del color azul por oxidación con nitrito de sodio, que es proporcional a la cantidad de triptófano presente en la muestra.

#### Material y reactivos:

Fotocolorímetro Baush & Lomb.

Celdas colorimétricas

Matraces Erlenmeyer de 50 ml

Pipetas volumétricas de: 1, 5, 10 ml

p-Dimetilbenzaldehído al 0.5% en HCl 1 N

Nitrito de sodio al 0.05%

---

\*Se agradece a la Srta. Pilar Guerrero R. su valiosa ayuda en esta determinación.

### Método:

A 10 mg de la muestra se le adicionan 2.5 ml de la solución de p-DAB y 12 ml de  $H_2SO_4$ , se agita y se deja reposar durante 17 horas en la obscuridad, al mismo tiempo se prepara un blanco de reactivos, los estándares de triptófano con cantidades de 50 a 300 mg del mismo así como un patrón de caseína como doble control. Pasado este tiempo se les adiciona 0.1 ml de  $NaNO_2$ , se deja 30 minutos para que se desarrolle color, se lee a 590 milimicras, ajustando con un blanco de agua a 100% de transmitancia.

### Cálculos:

El % de transmitancia se convierte a densidad óptica. Este valor se interpola en la curva tipo de triptófano y se obtiene así la cantidad de este aminoácido en la muestra.

### Evaluación de la calidad de la proteína<sup>25</sup>

Las proteínas son compuestos necesarios para conservar una buena salud; las necesidades de las proteínas de un individuo dependen de dos factores:

- Una cantidad basal, por debajo de la cual se estima imposible conservar una buena salud y tener un desarrollo normal.
- Una cantidad adicional para hacer frente a los es--

fuerzos biológicos, como infecciones poco graves.

Por lo tanto, los métodos utilizados deben evaluar esas características; y la calidad de las proteínas, calidad que está determinada fundamentalmente por los aminoácidos -- que componen a la proteína.

Entre los métodos utilizados para la evaluación están los métodos químicos y biológicos. Los primeros se basan en la comparación de los aminoácidos indispensables de la proteína que se va a evaluar contra el patrón de referencia establecido por la FAO (1957). De esta forma se puede calcular la calificación química.

De los métodos más utilizados para evaluar la proteína biológicamente, se tienen los que miden el cambio de peso, así como los que miden los cambios de nitrógeno corporal; de entre los primeros tenemos la EP (Eficiencia de la proteína), el cual se basa en la relación de ganancia y peso y gramos -  
proteína consumida.<sup>23</sup>

$$EP = \frac{\text{Ganancia de peso}}{\text{Proteína ingerida}}$$

Este método es una manera fácil de medir el valor de la proteína en la dieta. Si la dieta contiene cantidades suficientes de los aminoácidos indispensables, el crecimiento-

será en forma progresiva; de lo contrario, el crecimiento se ve reducido o detenido totalmente, por lo tanto el crecimiento es un índice de buena sensibilidad.

Este es el método más sencillo para determinar la calidad de una proteína, pues no requiere determinaciones químicas; pero está expuesto al posible error de que el aumento de peso puede no ser proporcional al aumento de proteínas en el organismo. Both Hegsted ha reportado que los datos obtenidos en ratas en crecimiento son reproducibles para el hombre, por haber gran semejanza en el metabolismo de utilización de proteínas en ambos casos.

#### Método:

- Se utilizan ratas machos (blancas) de una misma cepa, de 22 a 25 días de nacidos, de un peso de 35 a 40 g. Se utilizan de 8 a 10 ratas por proteína a evaluar.
- El lote de ratas se coloca en jaulas individuales y se someten a depleción durante 24 horas.
- La dieta se prepara con una concentración de proteínas de 10%. Porque la EP varía con el nivel de proteína de la dieta, se ha encontrado el 10% como nivel óptimo.
- Se toma el peso del animal después del ayuno y se-

alimenta con la dieta a prueba, alimentándolos ad-libitum" durante 4 semanas.

- Durante este período se miden diariamente los cambios de peso del animal, así como la cantidad de dieta consumida, teniéndose así la ganancia total de peso y el consumo total de proteína.
- Paralelamente se hace lo mismo, pero con proteína de caseína, para tener un patrón de referencia.

#### COMPOSICION DE UNA DIETA NORMAL

Componentes	Cantidad (g)
Proteína a evaluar	10.0
Aceite de maíz	20.0
Mezcla de vitaminas*	2.0
Mezcla de sales minerales**	4.0
Colina	0.4
Celulosa	4.0
Glucosa	20.0
Sacarosa	20.0
Almidón de maíz	<u>19.6</u>
	100.0

MEZCLA DE VITAMINAS\*

<u>Componentes</u>	<u>Cantidad (g)</u>
Vitamina A (200,000 U/g)	4.50
Vitamina D (400,000 U/g)	0.25
Alfa tocoferol	5.00
Acido ascórbico	45.00
Inositol	5.00
Cloruro de colina	75.00
Menadiona	2.25
Acido p-aminobenzoico	5.00
Niacina	4.50
Riboflavina	1.00
Clorhidrato de piridoxina	1.00
Tiamina	1.00
Pantotenato de calcio	3.00
Biotina	20.00
Acido fólico	90.00
Vitamina B <sub>12</sub>	1.35

MEZCLA DE SALES MINERALES\*\*

	<u>Cantidad (g)</u>
Fosfato de calcio tribásico	57.996
Cloruro de sodio	25.000
Cloruro de potasio	15.000
Citrato ferroso	0.600
Carbonato de magnesio	0.550
Cloruro de manganeso	0.550
Carbonato de cobre	0.140
Carbonato de zinc	0.160
Yodato de sodio	0.002
Fluoruro de sodio	<u>0.002</u>
TOTAL	100.000

MÉTODOS QUE MIDEN LOS CAMBIOS DE NITRÓGENO CORPORAL<sup>21</sup>

Como ya se mencionó antes, la EP no es un parámetro-

del todo confiable, por lo que es necesario recurrir a otros parámetros que se acerquen más a la realidad. Tal es el caso de la UNP, que representa la proporción retenida del nitrógeno consumido con el alimento.

$$UNP = \frac{\text{Nitrógeno retenido}}{\text{Nitrógeno consumido}}$$

UNP = Utilización Neta de la Proteína

Método:

- A un grupo de ratas blancas machos, de peso uniforme se mantuvieron en ayuno 24 horas, se les da la dieta con la proteína a evaluar "ad-libitum" y agua suficiente durante 28 días.
- Al final del experimento los animales son sacrificados con cloroformo, se abren y se secan en un horno caliente a 105°C durante 24 horas.
- Una vez secos se pesan y se muelen en licuadora, arrastrando todas las partículas que se pudieran quedar en la licuadora.
- Del polvo seco se toman muestras homogéneas y se les determina nitrógeno corporal total, al cual se le resta nitrógeno corporal total de animales tiempo cero (sacrificados después de la depleción).
- Al mismo tiempo se alimenta un grupo de ratas con-

una dieta de caseína (proteína de referencia) y se procede de igual forma.

### ANÁLISIS BACTERIOLOGICO<sup>13</sup>

Este análisis se hace con objeto de determinar la calidad bacteriológica de los productos y para ver si cumple con las normas establecidas.

#### Materiales y reactivos:

Balanza granataria  
Estufa para incubar  
Contador de colonias Quebec  
Tubos con 9 ml de agua peptonada al 1%  
Cajas de Petri estériles  
Plate Count Agar (Difco)  
Bilis verde brillante (Difco)  
Agar rojo bilis violeta

#### Preparación de la muestra:

En condiciones asépticas se pesan 10 g de la muestra y se llevan a un matraz con 90 ml de agua estéril peptonada al 0.1% y se hacen diluciones.

#### Cuenta de microorganismos viables totales:

Se toma 1 ml de cada dilución, se pasan a las cajas-

Petri por duplicado, en seguida se agrega a cada caja aproximadamente 20 ml de medio agar cuenta total, se homogeneiza y se deja solidificar el medio a temperatura ambiente, se invierten las cajas y se incuban a 37°C durante 48 horas. Posteriormente se saca la cuenta total y se reporta en número de microorganismos/g de producto.

#### Cuenta de coliformes:

Pruebas presuntivas. De las diluciones hechas, se adicionan a los tubos preparados con solución de medio bilis verde brillante con su respectiva campana, para obtener la posible formación de gas. Se incuban a 37°C.

Pruebas confirmativas. Se realiza de la misma forma que para la cuenta total pero el medio utilizado es agar rojo violeta bilis, vertido en dos capas. Las cajas se incuban a 35°C durante 24, 48 y 72 horas.

### CALIFICACION DE MATERIALES DE EMPAQUE<sup>6</sup>

#### Introducción:

Un empaque puede definirse como la protección dada a cualquier material por medio de un recipiente de tal modo diseñado, que prevenga daños al contenido por influencias externas. Las principales características y funciones de los-

empaques, las cuales deben considerarse en su elección son:-  
ausencias de toxicidad, compatibilidad con el alimento, ----  
transparencia (cuando así convenga), resistencia a la ten---  
sión y al impacto, inviolabilidad, protección sanitaria, pro  
tección contra pérdida o acumulación de agua o grasa, de ga  
ses y olores, facilidad de impresión, facilidad de apertura,  
facilidad de desecho, bajo costo, etc. (se han señalado las-  
más importantes).

Materiales:

Aceite esencial de menta  
Parafina, 1 vela  
CaCl<sub>2</sub> anhidro 800 g  
BaCl<sub>2</sub> 150 g  
Aceite mineral ligero 10 ml  
Barras de chocolate, 3  
Colorante liposoluble, 5 g  
Diversos materiales de empaque

Equipo:

Estufa de laboratorio  
Balanza analítica y termómetro  
Selladora para plástico y desecador  
Azulejos blancos y pipetas de 10 ml  
Tijeras y cerillos

Latas vacías con tapas perforadas  
Plantilla circular y cuchillo  
Anillos metálicos de 4 cm de diámetro  
Espátula

Pruebas:

1. Peso por unidad de área. Pese cada uno de los materiales en una balanza analítica y mida el área correspon--diente.

2. Rasgado. Rasgue la muestra a mano, observe el --grado de facilidad con que el rasgado comienza y continúa --una vez empezado, observe el tipo de bordes obtenidos, por -ejemplo, borde liso, dentado, etc. Indique sus observacio--nes.

3. Permeabilidad al vapor de agua.

a) Cortar tres muestras de cada material usando -una plantilla circular.

b) Quitar las tapas de los botes de prueba y colo--car 50 g de  $\text{CaCl}_2$  anhidro.

c) Colocar una muestra en la parte superior de la lata y sujetarla con la tapa perforada.

Con materiales laminados compuestos es necesario utilizar tres muestras con un lado hacia arriba y otras tres --con el mismo lado hacia abajo. Aplicar una película de parau

fin a fundida a la orilla del bisel de la tapa.

- d) Pesar cada lata en balanza analítica y colocar las latas en un desecador conteniendo solución saturada de  $\text{BaCl}_2$  al 90% de HR y guardar en -- una estufa controlada a  $37.8^\circ\text{C}$ .
- e) Pesar a intervalos de 24 horas y representar - en gráfica la diferencia en el peso de cada la ta; coloque en el eje de las abscisas y el --- tiempo en el eje de las ordenadas. El peso en gramos. Cuando la gráfica se vuelva una línea recta para todas las muestras, quitarlas del - desecador.
- f) Medir las pendientes de las curvas construidas para cada muestra y expresarlas en g/24 horas. Promediar los valores para las tres latas por muestra y reportarlo como la permeabilidad o - transmisión de vapor de agua del material en - g/24 horas.

#### 4. Permeabilidad gaseosa.

- a) Dividir la barra de chocolate en cinco partes- iguales y empacar 4 de las porciones en los ma teriales en estudio, guardar la quinta parte - sin empacar.

- b) Colocar en el fondo del frasco para este experimento 2 ml de aceite esencial de menta y colocar la malla.
- c) Poner las muestras en el frasco sobre la malla evitando el contacto con el aceite, almacenar el frasco a temperatura ambiente durante una semana. Después de este tiempo desempacar las muestras.
- d) Organizar una prueba "panel" para juzgar: contaminación con olores y contaminación con sabores.

5. Permeabilidad a los aceites.

- a) Cortar una muestra de 10 x 10 cm de cada material.
- b) Colocar una gota de aceite (aproximadamente -- 0.1 ml) en un azulejo blanco y colocar la muestra sobre y en contacto con la gota, manteniéndola en su sitio con un anillo de metal.
- c) Colocar 0.1 g de un colorante liposoluble sobre el área de la gota de aceite. Guardar las pruebas a temperatura ambiente.
- d) A intervalos de tres días mover cuidadosamente el colorante colocado en la superficie de las-

muestras con una espátula limpia y blanda. --  
Efectuar esta operación hasta que el colorante  
deje una clara marca en la superficie del mate  
rial a prueba. Informar el tiempo en días en  
que la penetración ocurre, como un índice de -  
la resistencia del material a la penetración -  
del aceite, informar la temperatura a la que -  
se almacenaron.

### EVALUACION SENSORIAL<sup>37</sup>

En la evaluación preliminar de las características -  
organolépticas de los productos desarrollados, se utilizó un  
pequeño grupo de 15 personas del mismo laboratorio, quienes  
emitieron su concepto acerca de las siguientes característi  
cas de las muestras: consistencia, color, olor y sabor. Por  
medio de métodos subjetivos, en los que cada persona emite -  
su evaluación personal y su grado de preferencia por el pro  
ducto. Se probaron diferentes sabores artificiales tales co  
mo: plátano, ciruela, fresa, canela, vainilla, chocolate, --  
nuez y manzana.

CAPITULO III

---

RESULTADOS

CUADRO I

ANALISIS BROMATOLOGICO DE MATERIA PRIMA.

(g/100 g de producto)

	<u>LECHE EN POLVO</u>	<u>HARINA DE SOYA</u>	<u>SUERO DE LECHE</u>
Humedad	3.60	2.10	1.75
Cenizas	7.80	5.00	8.70
Proteínas	34.80	42.90	12.43
Grasa Cruda	3.70	20.54	5.52
Fibra Cruda	—	3.00	—
Carbohidratos	50.10	26.46	71.60

CUADRO II

CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LAS PROTEINAS DE LAS MATERIAS PRIMAS

(g/ 16 g de Nitrógeno Total)

	<u>LECHE EN POLVO</u>	<u>HARINA DE SOYA</u>	<u>SUERO DE LECHE</u>
Lisina	7.5	6.1	7.9
Isoleucina	4.3	4.3	3.9
Treonina	3.7	3.5	6.9
Valina	4.8	4.0	4.2
Leucina	8.6	7.2	7.4
Triptofano	1.4	1.3	1.2
Metionina	2.1	1.1	2.5
Fenil Alanina	4.2	4.7	4.5

CUADRO III

COMPOSICION DE LAS MEZCLAS

	g de prot/- 100 g prod.	% de prot. aportada por:	Materia Prima	Precio por Kg.	Precio por g de prot.	Calificación Química
MEZCLA I	18.48	40	Leche 21.3g	\$ 6.57	3.55	91.4
		10	Soya 4.3g			
		50	Suero 74.4g			

	g de prot/- 100 g prod.	% de prot. aportada por:	Materia Prima	Precio por Kg.	Precio por g de prot.	Calificación Química
MEZCLA II	32.04	40	Leche 36.9g	\$ 8.78	2.73	75.45
		50	Soya 37.3g			
		10	Suero 25.8g			

CUADRO IV

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS MEZCLAS

(g/100 g de producto)

	<u>MEZCLA I</u>	<u>MEZCLA II</u>
Humedad	3.50	3.50
Cenizas	8.36	6.80
Proteínas	18.17	32.20
Grasa	4.56	12.10
Fibra Cruda	0.12	1.15
Carbohidratos	65.29	44.25
Ión Sodio	0.36 meq/g de prod.	0.18 meq/g de prod.

CUADRO V  
 CONTENIDO DE AMINOACIDOS EN LAS PROTEINAS DE LAS MEZCLAS.  
 (g/16 g de Nitrógeno total)

	MEZCLA I	MEZCLA II	PROTEINA PATRON DE LA FAO
Lisina	6.9	5.9	4.2
Isoleucina	5.4	4.8	4.2
Treonina	5.3	3.9	2.8
Valina	5.8	4.9	4.2
Leucina	9.2	7.8	4.8
Triptofano	1.28	1.36	1.4
Metionina	2.4	2.2*	2.2
Fenil Alanina	3.9	4.3	2.8

\*Adicionado con  
 0.17 g L-Met/100  
 g de producto.

CUADRO VI

EFICIENCIA PROTEICA (E.P.) Y UTILIZACION NETA DE LA PROTEINA (U.N.P.)

DE LAS MEZCLAS

(x= Promedio D.E.= Desviación Estándar)

Fuente de Proteínas en la dieta	Cont. de Prot. en la dieta g/100 g prot.	Número de Animales.	E.P. x y D.E.	EP como % de EP de la cas.	U.N.P. x y D.E.	UNP como % de UNP de la caseína
CASEINA	10.0	8	3.12 ± 0.14	100	63.50 ± 1.15	100
MEZCLA I	10.0	10	3.12 ± 0.08	100	59.05 ± 1.44	92
MEZCLA II	10.0	10	3.12 ± 0.13	100	59.49 ± 3.47	93

CUADRO VII

FORMULACIONES PARA BEBIDAS INSTANTANEAS

	BEBIDA INSTANTANEA I (Hecha con la Mezcla I)	BEBIDA INSTANTANEA II (Hecha con la Mezcla II)
Mezcla	70.5 g	42.5 g
Azúcar	27.9 g	55.9 g
Estabilizante	0.8 g	0.8 g
Saborizante	0.8 g	0.8 g

PREPARACION:

Suspender 100 gramos (g) de la formulación (I o II)- y disolver en una taza de agua (250 ml aproximadamente) recién hervida fría o caliente. Se agita vigorosamente o se mezcla en una licuadora.

CUADRO VIII

FORMULACIONES PARA PAPILLAS

	PAPILLA I (Hecha con la <u>Mezcla I</u> )	PAPILLA II (Hecha con la <u>Mezcla II</u> )
Mezcla	70.5 g	42.5 g
Azúcar	22.9 g	50.9 g
Fécula de maíz	5.0 g	5.0 g
Estabilizante (Monoestearato de Na)	0.8 g	0.8 g
Saborizante	0.8 g	0.8 g

PREPARACION:

Suspender 100 g de la formulación (I o II), disolver en una taza de agua (250 ml aproximadamente) y poner a calentar en baño maría, agitándolo constantemente durante - 15 minutos.

CUADRO IX

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA MEZCLA I USADA  
PARA PREPARAR LA PAPILLA Y LA BEBIDA

(Por 100 g de producto seco)

Humedad.....	2.52
Cenizas.....	5.81
Proteínas.....	12.74
Grasa cruda.....	3.18
Fibra cruda.....	0.07
Carbohidratos.....	75.68
Energía.....	382.30 Kcal

Precio por Kg \$ 5.29, incluyendo todos los -  
ingredientes, pero no costos de elaboración,  
empaque, etc.

CUADRO X

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA MEZCLA II USADA  
PARA PREPARAR LA PAPILLA Y LA BEBIDA

(Por 100 g de producto seco)

Humedad.....	1.43
Cenizas.....	2.88
Proteínas.....	13.50
Grasa cruda.....	5.11
Fibra cruda.....	0.47
Carbohidratos.....	76.61
Energía.....	406.43 Kcal

Precio por Kg \$ 5.02, incluyendo todos los -  
ingredientes, pero no costos de elaboración,  
empaque, etc.

## CUADRO XI

### CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA FORMULACION SABOR CANELA

Consistencia	Semiespesa
Color	Amarillo claro
Sabor	Canela
Olor	Agradable

Este fue uno de los sabores que más agradaron. -  
La temperatura a la que se realizaron las degustaciones de los productos fue de 20°C.

## CUADRO XII

### DETERMINACION DE ACIDO ASCORBICO EN LOS PRODUCTOS PREPARADOS CON LAS MEZCLAS I Y II

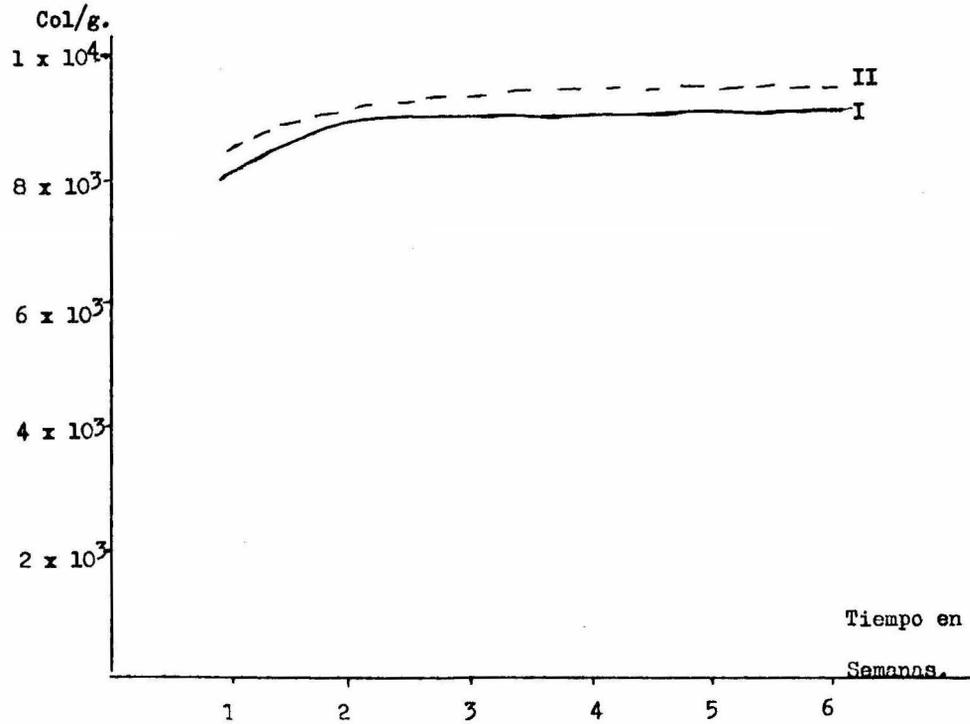
(En mg/100 g)

	<u>Productos basados en la Mezcla I</u>	<u>Productos basados en la Mezcla II</u>
No adicionado	3.48	3.10
Adicionado*	18.88	19.97

\*Se agregaron 15.4 y 16.87 mg de ácido ascórbico por  
100 g de producto respectivamente.

FIGURA I

ANALISIS BACTERIOLOGICO DE LOS PRODUCTOS A BASE  
DE LAS MEZCLAS I Y II (CUENTA TOTAL EN PLACAS).



## CUADRO XIII

### RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE MATERIALES DE EMPAQUE

Se probaron tres tipos de empaque de diferentes materiales y espesores.

#### Material probado:

- a) Laminado de polietileno-aluminio-polietileno
- b) Polietileno grueso
- c) Polietileno delgado

Resultados de las pruebas efectuadas:

#### 1. Peso por unidad de área ( $1 \text{ cm}^2$ )

- a) 0.01111 g
- b) 0.00843 g
- c) 0.00400 g

#### 2. Rasgado

- a) Se rompe con relativa facilidad, muestra una superficie lisa al romperse.
- b) Presenta alta resistencia y el rasgado tiene una forma muy irregular. Borde dentado.
- c) Se rasga con mucha facilidad. Presenta bordes dentados.

### 3. Permeabilidad al vapor de agua (figura II)

- a) Su pendiente  $M = 0.16$  durante 48 horas. Por lo tanto, su permeabilidad al vapor de aguas de  $0.08 \text{ g/24 horas}$ .
- b) Su pendiente  $M = 0.22$  durante 48 horas. Por lo tanto, su permeabilidad al vapor de aguas de  $0.11 \text{ g/24 horas}$ .
- c) Su pendiente  $M = 0.88$  durante 24 horas. Por lo tanto, su permeabilidad al vapor de aguas de  $0.44 \text{ g/24 horas}$ .

### 4. Permeabilidad gaseosa

- a) No hubo permeabilidad con olores y sabores - en tres de las muestras.
- b) Hubo contaminación con olores y sabores en - dos de las muestras.
- c) Hubo contaminación con olores y sabores en - las tres muestras, el olor a menta fue muy - notable.

### 5. Permeabilidad a los aceites

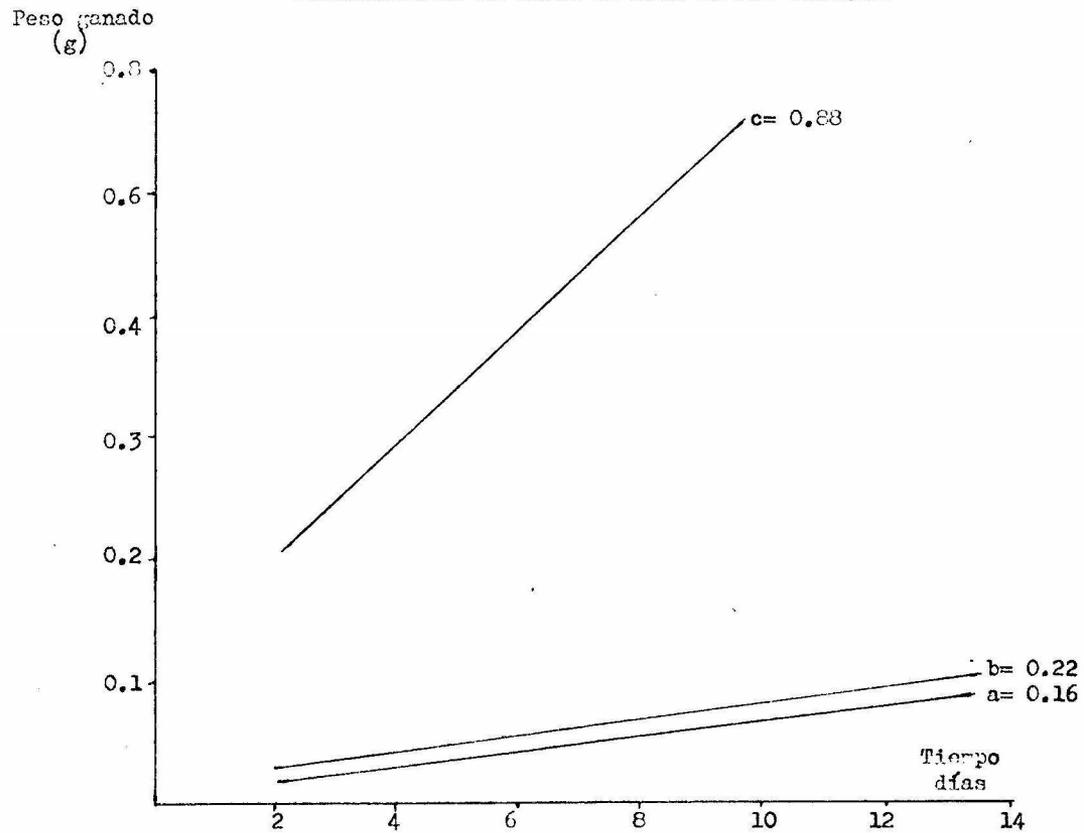
- a) No hubo permeabilidad durante dos semanas.
- b) Hubo permeabilidad hasta el noveno día.
- c) Hubo permeabilidad desde el quinto día.

### 6. Precio del material

Laminado \$ 80.00 Kg                      Polietileno \$ 30.00 Kg

FIGURA II

PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA DE LOS EMPAQUES



CAPITULO IV

---

DISCUSION

Como puede verse en el cuadro I, los tres ingredientes considerados tienen un contenido relativamente alto de proteínas, especialmente la harina de soya y la leche en polvo descremada. Aunque el suero de leche solamente tiene --- 12.5% de proteínas, éstas son lactoglobulinas y lactoalbúminas que tienen una calidad mucho mayor a la de la caseína o a la de la proteína de la harina de soya.

Para interpretar las cifras relativas a concentración de carbohidratos debe considerarse que, en la leche en polvo y en el suero están representados exclusivamente por lactosa y que como en el caso de la harina de soya, el 80% de ellos son de baja utilización para el organismo.

En el cuadro II se puede observar el contenido de aminoácidos en las proteínas de las materias primas. Es notable que las tres son muy ricas en lisina y que tienen un contenido satisfactorio de triptófano. Aunque la harina de-

soya es pobre en metionina, el suero de leche es rico en este aminoácido, de tal manera que pueden llegar a complementarse.

En base al contenido de aminoácidos y procurando mantener fija la proporción de leche, se encontró la mezcla --- ideal de los tres ingredientes. Tal mezcla es aquella en la que la leche en polvo aporta 40% de las proteínas, la harina de soya un 10% y el suero de leche 50%. Para obtener esta proporción se necesitan 21.3 g de leche descremada, 4.3 g de harina de soya y 74.4 g de suero. Como puede verse en el -- cuadro III, ésta se denominó Mezcla I, su precio por Kg sería de \$ 6.57; con un costo por gramo de proteína de 3.5 centavos, y una calificación química de 91.4 para triptófano.

El inconveniente principal de la Mezcla I, es su alto contenido de sales minerales por la alta participación -- del suero de la leche en su fórmula; el aporte del ion sodio es de 6.4 meq por 100 Kcal, que cae dentro del rango permitido de 1 a 40 meq por 100 Kcal en alimentos procesados destinados a la alimentación infantil.<sup>9</sup>

Se consideró conveniente buscar una segunda mezcla - con menor contenido de suero, para reducir así la concentración de minerales. Como al disminuir la cantidad de suero,-

debe aumentarse la cantidad de la harina de soya, se obtendría la ventaja adicional de un mayor contenido de proteínas.

Se encontró que una mezcla a la que se le denominó - Mezcla II, en donde la leche aportaría el 40% de la proteína, la harina de soya el 50% y el suero de leche el 10% restante, estaría compuesta por 36.8 g de leche, 37.4 g de harina de soya y 25.8 g de suero de leche; su costo por Kg sería de -- \$ 8.78, mayor al de la Mezcla I, pero el costo por gramo de proteína se reduciría a 2.7 centavos.

La calidad de la proteína de esta mezcla es más baja que la de la mezcla I, debido a que su alto contenido de harina de soya da lugar a una deficiencia de metionina. Esta desventaja puede corregirse con la adición de 0.17 g de L-me<sup>u</sup>tionina/100 g de mezcla; lo cual elevaría el costo a \$ 9.07- el Kg del producto, y a 2.8 centavos por g de proteína. Esta suplementación permite elevar la calificación química hasta prácticamente el 100%.

En el cuadro IV puede verse la composición de las -- dos mezclas. Cabe destacar que la mezcla II tiene un contenido muy alto de proteínas de alta calidad, un mayor contenido de grasa y un menor contenido de minerales; todo lo cual la hace más valiosa que la mezcla I.

+

En el cuadro V se puede comprobar que la composición de estas mezclas cumple satisfactoriamente con las recomendaciones que establece el patrón de la FAO (1957).

En el cuadro VI se presentan los resultados de las pruebas de eficiencia protéica (EP) y utilización neta de la proteína (UNP) de las dos mezclas y de un patrón de caseína, a una concentración de 10% de proteína. Los resultados de eficiencia protéica de las mezclas probadas son sorprendentemente similares al patrón de la caseína y tienen una variabilidad muy pequeña.

La utilización neta de la proteína (UNP) es un parámetro más sensible que el de la EP, donde se muestra que cualquiera de las dos mezclas tiene una calidad muy cercana a la de la caseína.

Con los resultados anteriores se procedió a diseñar formulaciones para bebidas instantáneas y para papillas, a base de las dos mezclas estudiadas.

En el cuadro VII se presentan las formulaciones para bebidas instantáneas que son muy simples y fáciles de preparar, ya sea en agua fría o caliente.

Como puede verse en el cuadro VIII, las formulacio--

nes para papillas tienen un contenido menor de azúcar, pero incluyen de un 7% a un 8% de fécula de maíz, que se adicionó con objeto de dar la consistencia adecuada a este producto.

Los cuatro productos tienen alrededor de 13% de proteínas con una relación calórico-protéica de 30 Kcal/g de -- proteína, cantidad estimada como la más conveniente para la eficiente utilización de las proteínas.

En los cuadros IX y X, los productos a base de la -- mezcla II tienen mejores características, ya que tienen un -- mayor contenido de grasa, un contenido mucho menor de cenii-- zas y un costo más accesible.

Se hicieron pruebas organolépticas para juzgar a estos productos en comparación de algunos productos similares-- existentes en el mercado, así como para definir los sabores-- más adecuados para cada uno de ellos; se encontró que el pro-- ducto era muy superior a los productos comerciales cuando se diluían en ambos casos en agua; la desventaja desaparecía -- cuando se diluían en leche; pero esta última forma de prepa-- ración es absurda en un producto que es francamente lácteo y porque desde el punto de vista nutricional, cualquier pro-- ducto adquiere un mejor valor nutritivo mezclado con leche, -- pues se trata del valor nutritivo de la leche. Cabe recor--

dar que los productos diseñados están dirigidos a poblaciones que consumen leche en pocas cantidades.

La prueba de sabores mostró que los más adecuados, son los de: plátano, ciruela y manzana para la papilla. Para la bebida instantánea de canela, nuez y fresa.

Una vez preparadas las papillas o las bebidas, se mantendría una concentración de 5.1 g/100 ml de proteínas con los productos hechos a base de la mezcla I y 5.4 g de proteínas/100 ml, en el caso de los productos hechos a base de la mezcla II, con la ventaja de una alta calidad protéica, una adecuada relación calórica-protéica; un costo por porción de 60 centavos, sin incluir costos de elaboración y distribución. Un costo por gramo de proteína de 4.08 centavos para el primer caso y de 3.71 centavos para el segundo caso; una gran facilidad de preparación y magníficas características organolépticas. Si se comparan las papillas de este estudio con las papillas comerciales, las últimas están constituidas en su mayor parte por agua y carbohidratos; su aporte en proteínas es casi nulo, exceptuando las papillas hechas con productos animales, como: pavo, carnero, pollo, etc. Pero su precio es bastante elevado (3.95 pesos por porción) y su contenido calórico es bajo.

Se juzgó conveniente que las formulaciones preparadas tuvieran un contenido satisfactorio de ácido ascórbico, ya que en un momento dado podrían desplazar a la ingestión de frutas. El contenido natural de la formulación fue de apenas 3 mg/100 g; como puede verse en el cuadro XII, se agregaron 15.4 mg de vitamina C y 16.8 mg de vitamina C por 100 gramos de producto a base de la mezcla I y II, respectivamente, con lo cual el contenido final de ácido ascórbico se elevó a un satisfactorio 19 a 20 mg/100 g.

Aunque se trate de productos secos que se conservan fácilmente, se hizo el análisis bacteriológico de los productos a base de las mezclas I y II a lo largo de seis semanas en que se mantuvieron almacenadas en bolsas de polietileno sin ninguna precaución especial, ni esterilización previa. Como puede verse en la figura I, la cuenta fue muy baja en todos los casos, y nunca pasó del 20% de lo que la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA) permite para la leche en polvo (que es 50,000 col/g).<sup>34</sup>

En todo producto con propósitos nutriólogicos y de servicio social, debe cuidarse especialmente el renglón de precio final al público. Los productos diseñados son extraordinariamente baratos por lo que toca a las materias primas. Además, no se requiere ningún paso complejo ni costoso en su

elaboración, se estima que el costo por este concepto es sumamente bajo. Sin embargo, lo anterior no es aplicable al empaque, ya que este renglón es uno de los que más inciden en el precio final, por ello se hizo una investigación de varios posibles materiales de empaque para los productos, estudios cuyos resultados pueden verse en el cuadro XIII.

Se probaron materiales de empaque de polietileno de diferentes espesores y laminados de polietileno-aluminio-polietileno, presentando estos últimos magníficas características para envasar alimentos, pero su precio es muy elevado. Sin embargo, los materiales de polietileno (de cierto espesor) presentan también buenas características para envasar alimentos y su precio es mucho menor que los anteriores. Por lo tanto, se concluyó que el material más adecuado es el polietileno, ya que una bolsita para 100 g costaría 10 centavos.

CAPITULO V

---

CONCLUSIONES

1. En vista de los resultados obtenidos se considera que se alcanzaron los objetivos del trabajo de diseñar y evaluar un alimento infantil especialmente útil en la época del destete; de alto valor nutritivo, bajo costo, conservación prolongada, fácil uso y características organolépticas agradables.
2. Las combinaciones utilizadas de leche descremada en polvo, harina de soya y suero de leche permiten una optimización nutricional y económica.
3. Estas mezclas permiten la elaboración de productos organolépticamente atractivos, de fácil conservación y manejo.

CAPITULO VI

---

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Association of Official Agricultural Chemist (A.O.A.C.)-  
Official Methods of Analysis 10 Ed. Washington D. C. ---  
(1965).
2. Avorgy P., and Pearson W. N. "The vitamins". Vol. VIII,-  
2 Ed. Academic Press Inc., Publishers, New York (1967).
3. Banco Nacional de Comercio. "Declaración del foro de Ro-  
ma sobre los problemas de la alimentación". Diciembre de  
1974.
4. Ceriani. "Opiniones divergentes sobre la alimentación y-  
población mundial". Rev. de la FAO, Vol. 4, No. 2, marzo  
abril, 1971.
5. Chávez A. "Ecological Factors in the Nutrition and Deve-  
lopment of Children in Poor Rural Areas". III Western --  
Hemisphere Nutrition Congress. Ed. Futura Publishing, Co.  
Inc. Miami, 1971.
6. Cuervo A. y Velázquez O. "Elaboración y aplicación de ma-  
terial audiovisual para la demostración de prácticas de-  
laboratorio de desarrollo de alimentos". Tesis Profesio-  
nal, UNAM, 1975. Facultad de Química.
7. De Castro J. "Libro Negro del Hambre". Ed. Buenos Aires,  
1972.
- 8. De Chávez M. "Evaluación sobre la aceptación, tolerancia  
y manejo de un nuevo alimento infantil". Rev. Tec. de --  
Alim. Vol 4, No. 5. Septiembre-octubre, 1969.
9. De Vilbiss N. D. Nutrition Reviews, February 1971. Vol.-  
29, No. 2, p. 30.
10. Díaz del Castillo E. "Desnutrición materna en Utero". --  
Gac. Med. de Mex. Vol. 107, No. 4, abril de 1974.
11. Documento que propone medidas de acción para evitar la -  
crisis de alimentos. Conferencia Mundial de la Alimenta-  
ción. En prensa.

12. González N. C. "Aplicación de la cromatografía al estudio del valor biológico de las proteínas". Tesis Profesional. C.Q. UNAM, 1960.
13. Harrigan Mc. C. Manual Difco, 1966.
14. Hernández M. et al. "Las prácticas de alimentación infantil en el medio rural mexicano". Monografía L-24. Div. - de Nutr. México, mayo, 1975.
15. Hill Harrison de la. Asociación Americana de la Soya. Co municac*ión* Personal. (1975)
16. Holsinger V. H., et al. "Whey Beverages". Journal of Dairy Science. Vol. 57, No. 8. August, 1974.
17. Joslyn M. A. Methods in Food Analysis. Ed. Academic ---- Press Inc. 2 Ed. 1970.
18. Manual for Nutrition Surveys. Interdepartamental Comi--- ttee on Nutrition for National Defense. Washington, D. C. 1957.
19. Malin K. "El hambre en el mundo". Ed. Cartago, 1963.
20. Martínez C., A. Chávez. "Nutrition and Development in In fants of poor rural areas". I. Consumption of mother's - milk by infants. Nutrition Reports International. Sept.- 1971. Vol. 4, No. 3.
21. Miller D. S. "A procedure for determination of NPU using rats body N Technique Evaluation of protein quality". Pu blication 1100 National Academy of Sciences. Washington, D. C. 1965.
22. Morichau-Beuchant J. "La salud en el mundo". Ed. Cartago. Oikos Tau, 1971.
23. "Necesidades de Proteínas", informe preparado por un gru po mixto FAO/OMS de expertos. Organización de Nac. Uni- das para la Agr. y la Alimentación, Roma, 1966.
24. Ordoñez B. R. "Características de la vida en el campo y- la ciudad". Gaceta Médica. Vol. 107. No. 4, abril, 1974.
25. Pearson D. "The Chemical analysis of foods". Ed. 6. J. - A. Churchill. London 1970.



26. Pimentel D., et al. "Food Production and the Energy Crisis". Science. Vol. 182, 2 nov. 1973.
27. Pokrovsky A. "El hambre no es inevitable", de la Conferencia Mundial de la Alimentación. Roma 1974. En prensa.
28. Ramírez J., L. A. Ayuardo, G. Becerra, A. Chávez. "La crisis de alimentos en México. Un análisis de la situación alimentaria en los últimos años". Pub. L-23 de la Div. de Nutr., México, enero de 1975.
29. Ramírez J., P. Arroyo, A. Chávez. "Aspectos socioeconómicos de los alimentos y la alimentación en México". Rev.-Comercio Exterior, agosto, 1971.
30. Ramos Galván. R. "Aspectos Sociales como causa y consecuencia de la desnutrición". Gac. Med. de Méx. Vol. 107, No. 4, abril, 1974.
31. Roe, J. H. & C. A. Knether. "The Determination of Ascorbic Acid". J. Biol. Chem. 147. 399, 1943.
32. Spies J. R. & Chambers D. C. "Chemical Determination of Tryptophan in Proteins Analytical Chemistry. Vol. 21, p. 1249, 1949.
33. Stein W., Moore S. "Cromatography of aminoacids of sulfonated polystyrene resins. J Biol. Chem. 192: 663 (195).
34. S.S.A. "Informe de anteproyecto de normas", elaborado -- por el Instituto de Salud Pública de la Dirección General de Departamento de Bebidas y Alimentos.
35. Suberbie F. "El problema de la Nutrición Infantil". Rev. Tec. de Alim. Vol. 4, No. 3, mayo-junio, 1969.
36. Villalobos C. "Conceptos Básicos sobre Análisis Sensorial". Rev. Tec. Alim. Año 8 Vol. enero-febrero, 1973.